

Aus der Medizinischen Klinik
mit Schwerpunkt Kardiologie und Angiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Endothelfunktion bei Patienten mit Systemischer Sklerose –
ein Marker für klinische Erkrankungsmanifestationen?

**zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)**

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Anne Klüßendorf
aus Rostock

Datum der Promotion: 05.06.2016

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IX
1 Einleitung	1
1.1 Systemische Sklerose	1
1.1.1 Definition	1
1.1.2 Klassifikation	1
1.1.3 Epidemiologie	3
1.1.4 Ätiologie	3
1.1.5 Pathogenese	4
1.1.6 Klinische Manifestationen	5
1.2 Vaskuläres Endothel	9
1.2.1 Physiologische Eigenschaften des Endothels	9
1.2.2 Bestimmung der Endothelfunktion	10
1.2.3 Endotheliale Dysfunktion und klinische Bedeutung	13
1.3 Hintergrund der Studie	15
1.3.1 Systemische Sklerose und FMD (Flow-Mediated Dilation) der A. brachialis	15
1.3.2 Vaskuläre Autoimmunantikörper bei systemischer Sklerose	17
1.4 Ziele der Studie	18
2 Material und Methoden	19
2.1 Studienaufbau	19
2.1.1 Rekrutierung der Studienteilnehmer	19
2.2 Charakterisierung der Studienkohorte	21
2.2.1 Patienten mit lSSc (limitierte systemische Sklerose) und dSSc (diffuse systemische Sklerose)	21
2.2.2 Demografische und klinische Charakteristika	21
2.2.3 Erkrankungsmanifestationen	22
2.2.4 Erkrankungsaktivität	24
2.2.5 Mikro- und Makrovaskulopathie	24
2.3 Endothelfunktionsmessung	25
2.3.1 Voraussetzungen und Ablauf	25
2.3.2 Messung der FMD	25
2.3.3 Messung der NMD	26
2.3.4 Auswertung der Ultraschallmessungen	27
2.4 Routinediagnostik	27
2.5 Messung der anti-AT ₁ R-, anti-ET _A R- und anti-PAR-1-Autoantikörper	28
2.6 Statistische Methoden	29

2.7	Literaturrecherche	29
3	Ergebnisse	31
3.1	Klinische Charakteristika	31
3.1.1	Baseline-Charakteristika	31
3.1.2	Kardiovaskuläre Risikofaktoren	33
3.1.3	Mikro- und Makrovaskulopathie	33
3.1.4	Erkrankungsmanifestationen der systemischen Sklerose	33
3.1.5	Erkrankungsaktivität, Hautbeteiligung und Lungenfunktion	35
3.1.6	Laborchemische Parameter	37
3.1.7	Medikation	41
3.2	Endothelfunktion	42
3.2.1	Flussmedierte und Nitroglycerin-medierte Vasodilatation	42
3.2.2	Vergleich der Endothelfunktion bei ISSc und dSSc	42
3.3	Einflussfaktoren der Endothelfunktion	44
3.3.1	Endothelfunktion und Baseline-Charakteristika	44
3.3.2	Kardiovaskuläre Risikofaktoren, Endothelfunktion sowie Mikro- und Makrovaskulopathie	45
3.3.3	Endothelfunktion und Erkrankungsmanifestationen	47
3.3.4	Endothelfunktion unter Berücksichtigung vom mRSS, Lungenfunktions- parametern und Erkrankungsaktivität	48
3.3.5	Endothelfunktion, Standardlabor und Autoantikörper	51
3.4	Patienten mit „guter“ und Patienten mit „schlechter“ Endothelfunktion	54
3.5	Zusammenfassung der Ergebnisse	55
4	Diskussion	57
4.1	Studienergebnisse und Literaturvergleich	57
4.2	Mögliche Ursachen diskrepanter Ergebnisse	63
4.2.1	Unterschiede von Kohortencharakteristika	63
4.2.2	Unterschiede in der Methodik der FMD-Messung	65
4.2.3	Allgemeiner Literaturvergleich der Patientenkohorte	67
4.3	Limitationen der Studie	71
4.4	Schlussfolgerung und Ausblick	72
	Literaturverzeichnis	75
	Eidesstattliche Versicherung	93
	Lebenslauf	95
	Danksagung	97

Abbildungsverzeichnis

1	Erkrankungs- und Organmanifestationen bei SSc	7
2	Versuchsaufbau zur FMD- und NMD-Messung	26
3	Sonografische Endotheldarstellung	26
4	EUSTAR-Aktivitätsscore und modifizierter Rodnan Skin Scores (mRSS) bei Patienten mit lSSc und dSSc	36
5	Korrelationen der anti-AT ₁ R, anti-ET _A R- und PAR1-Autoantikörper Teil I	40
6	Korrelationen der anti-AT ₁ R, anti-ET _A R- und PAR1-Autoantikörper Teil II	41
7	Medikamenteneinnahme von lSSc und dSSc	42
8	Häufigkeitsverteilung der FMD- und NMD-Werte	43
9	FMD-Werte von Patienten mit lSSc und dSSc	44
10	Zusammenhang von Alter und FMD	45
11	FMD und Vorliegen einer Mikro-/ einer Makrovaskulopathie	46
12	FMD und modifizierter Rodnan Skin Score (mRSS)	49
13	FMD und Tiffeneau-Index (FEV ₁ %FVC)	49
14	FMD und EUSTAR-Aktivitätsscore	50
15	FMD und anti-AT ₁ R, anti-ET _A R- und PAR1-Autoantikörper Teil I	52
16	FMD und anti-AT ₁ R, anti-ET _A R- und PAR1-Autoantikörper Teil II	53

Tabellenverzeichnis

1	Einteilung der systemischen Sklerose nach LeRoy et al.	2
2	Literaturübersicht: FMD der A. brachialis bei Patienten mit SSc	16
3	Erhebung klinischer Charakteristika	21
4	EUSTAR Aktivitätsscore für Patienten mit SSc anhand der Kriterien von Valentini et al.	24
5	Baseline-Charakteristika	32
6	Kardiovaskuläre Risikofaktoren, Mikro- und Makrovaskulopathie	33
7	Erkrankungsmanifestationen	34
8	Lungenfunktionsparameter	37
9	Laborparameter	38
10	Autoimmunantikörper	39
11	FMD und kardiovaskuläre Risikofaktoren	47
12	FMD und Erkrankungsmanifestationen	48
13	FMD und laborchemische Parameter	51
14	Korrelation von FMD und Autoantikörpertitern unter Einfluss von ACE- /AT ₁ -und ET-Antagonisten	53
15	Allgemeiner Literaturvergleich	70

Abkürzungsverzeichnis

A.brachialis ..	Arteria brachialis
ACA	anti-Centromer-Antikörper
Ach	Acetylcholin
ACR	American College of Rheumatology
ACS	akutes Koronarsyndrom
ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
AK	Autoantikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
ANA	antinukleäre Antikörper
anti-Scl70-AK	Synonym: anti-TopoisomeraseI-Antikörper
ARA	American Rheumatism Association
AST	Aspartat-Aminotransferase
AT ₁ R	Angiotensin II Typ 1 Rezeptor
BD	Blutdruck
bFGF	basic fibroblast growth factor
BMI	Body Mass Index
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CFR	coronary flow reserve, koronare Flussreserve
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
cIMT	carotid intima-media-thickness, Intima-Media-Dicke der A. carotis
CK	Kreatinkinase
CMV	Cytomegalievirus
CO	Kohlenstoffmonoxid
CRP	C-reaktives Protein
CTGF	connective tissue growth factor
DLCOc	Diffusionskapazität für CO, Hämoglobin korrigiert
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNSS	Deutsches Netzwerk für Systemische Sklerose
dSSc/dcSSc ..	diffuse Verlaufsform der systemischen Sklerose
E-Selectin	endothelial leukocyte adhesion molecule-1
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid Synthase
EPC	endotheliale Progenitorzelle
ET _A R	Endothelin-1 TypA Rezeptor
ET-1	Endothelin-1
EULAR	The European League Against Rheumatism
EUSTAR	EULAR Scleroderma Trials And Research Group
FEV ₁	Einsekundenkapazität

FEV ₁ /FVC ..	Tiffeneau-Index
FMD	flow-mediated dilation, flussmedierte Vasodilatation
FVC	forcierte Vitalkapazität
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HDL	high density lipoprotein
HLA	human leukocyte antigen
HR-CT	hochaufgelöste Computertomographie
ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1
IL	Interleukin
ILD	interstitielle Lungenerkrankung
IRF5	Interferon regulatory factor 5
KCO	Krogh Factor (DLCOc/VA)
KHK	koronare Herzerkrankung
LDL	low density lipoprotein
LSB	Linksschenkelblock
lSSc/lcSSc ...	limitierte Verlaufsform der systemischen Sklerose
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
mPAP	mittlerer pulmonalarterieller Druck
mRSS	modifizierter Rodnan Skin Score
MW	Mittelwert
N	Anzahl Patienten
NMD	nitroglycerine-mediated dilatation, Nitroglycerin-mediierte Vasodilatation
NO	Stickstoffmonoxid
NS	nicht signifikant
NSTEMI	nicht-ST-Hebungsinfarkt
PAH	pulmonalarterielle Hypertonie
PAR1	Protease-aktivierten Rezeptor 1
PAT	pulse amplitude tonometry
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCWP	pulmonary capillary wedge pressure, Wedge Druck
PDE-5	Phosphodiesterase-5
PDGF	platelet-derived growth factor
PGI ₂	Prostazyklin
PORH	postokklusive reaktive Hyperämie
PWV	Pulswellengeschwindigkeit
QCA	quantitative Koronaranalyse
ROS	reactive oxygen species
RSB	Rechtsschenkelblock
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SLE	systemischer Lupus Erythematoses
sPAP	systolischer pulmonalarterieller Druck
SRC	scleroderma renal crisis
SSc	systemische Sklerose
SVES	supraventrikuläre Extrasystole
TGF-β	transforming growth factor beta
TLC	totale Lungenkapazität
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon
TTE	transthorakale Echokardiographie

TVT	tiefe Beinvenenthrombose
VA	Alveolarvolumen
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VEGF	vascular endothelial growth factor
VES	ventrikuläre Extrasystole
VF	Vorhofflimmern

Zusammenfassung

Zielstellung

Bei der systemischen Sklerose (SSc) gehören vaskuläre Pathologien zu den führenden klinischen Erkrankungserscheinungen. Messungen der flussmedierten Vasodilatation (Flow-Mediated Dilation, FMD) haben bereits gezeigt, dass bei Patienten mit SSc die endotheliale Funktion im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden eingeschränkt ist. Mit der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob bei Patienten mit SSc Zusammenhänge zwischen klinischen (vaskulären) Manifestationen und der endothelialen Funktion, ermittelt durch die sonografische FMD-Messung der A.brachialis, bestehen.

Methoden

In die Studie wurden 74 Patienten und Patientinnen mit SSc eingeschlossen, davon 35 mit diffuser (dSSc) und 39 mit limitierter (lSSc) Verlaufsform. Die Evaluation der endothelialen Funktion erfolgte mittels sonografischer FMD-Messung der A. brachialis, die endothelunabhängige Funktion ermittelten wir anhand der Nitroglycerin-medierten Vasodilatation (NMD). Die Dokumentation der Erkrankungsmanifestationen erfolgte mit Hilfe eines validierten Fragebogens des Deutschen Netzwerkes für Systemische Sklerose (DNSS). Klinische Charakteristika inklusive Rodnan Skin Score (mRSS) und den von der EUSTAR (EULAR Scleroderma Trials and Research group) verwendeten Aktivitätsscore für systemische Sklerose wurden erfasst. Die Beurteilung einer inneren Organbeteiligung erfolgte mittels HR-CT oder Nativröntgen des Thorax, transthorakaler Echokardiographie (TTE) sowie einer Lungenfunktionsprüfung mittels Bodyplethysmographie. Zusätzlich zu Standardlaborparameteranalysen wurden Serumkonzentrationen der Autoantikörper anti-AT₁R- (Angiotensin II Typ 1 Rezeptor), anti-ET_AR- (Endothelin-1 TypA Rezeptor) und anti-PAR-1 (Protease-aktivierten Rezeptor 1) bestimmt.

Ergebnisse

Es gab keine signifikanten Unterschiede bezüglich der FMD zwischen Patienten mit lSSc ($5.4\% \pm 3.8\%$) und Patienten mit dSSc ($4.9\% \pm 4.5\%$). Die endotheliale Funktion korrelierte signifikant invers mit dem Alter der Patienten ($r = -0.267$, $p = 0.022$). Frauen hatten tendenziell höhere FMD-Werte als männliche Studienteilnehmer (5.7% [$8.3-2.9\%$] vs. 2.7% [$4.4-0.0\%$], $p = 0.058$). Zwischen Erkrankungsaktivität und FMD fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge ($r = -0.63$, $p = 0.601$). Desweiteren zeigten sich weder zwischen Endothelfunktion und klinischen (vaskulären) Erkrankungsbildern noch zwischen FMD-Werten und kardiovaskulären Risikofaktoren signifikante Assoziationen. Hinsichtlich der anti-AT₁R-, anti-ET_AR- und PAR1- Autoantikörper ließen sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den Serumantikörpern und FMD-Werten nachweisen.

Schlussfolgerung

Eine endotheliale Dysfunktion lässt sich im gleichen Maße bei Patienten mit lSSc und dSSc nachweisen. Sie ist mit zunehmendem Alter progredient, und es scheint ein Zusammenhang zwischen eingeschränkter Endothelfunktion, höherer BSG und höherem mRSS zu bestehen. Mit weiteren Erkrankungsmanifestationen im Rahmen der SSc ist die endotheliale Funktion darüber hinaus nicht signifikant assoziiert, und es wurde kein Zusammenhang zwischen FMD und traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren bei Patienten mit SSc beobachtet. Prospektive Studien sind notwendig, um diese Ergebnisse in größeren Kohorten zusammen mit definierten klinischen Endpunkten zu bestätigen.

Abstract

Objective

In systemic sclerosis (SSc) vascular pathology is one of the leading clinical disease manifestations. Measurements of flow-mediated dilation (FMD) in the past have already shown that in patients with SSc endothelial function seems to be impaired compared to healthy controls. The aim of our study was to assess possible correlations between clinical (vascular) manifestations in patients with SSc and endothelial function measured by ultrasound FMD of the brachial artery.

Methods

We enrolled 74 patients with SSc (63 female, 11 male) in this study, 35 having the diffuse (dSSc) and 39 having the limited (lSSc) form of this disease. Endothelial function was evaluated by ultrasound imaging of the brachial artery and measurement of FMD, endothelial-independent function was evaluated by nitroglycerin-mediated dilation (NMD). Disease manifestations were assessed with a validated questionnaire of the German Network for Systemic Scleroderma (DNSS). Clinical characteristics including the modified Rodnan Skin Score (mRSS) and EUSTAR (EULAR Scleroderma Trials and Research group) Systemic Sclerosis Activity Score were evaluated. Organ involvement was evaluated by HR-CT or X-ray of the lungs, transthoracic echocardiography and lung function testing by body plethysmography. In addition to standard laboratory analyses we furthermore assessed anti-AT₁R- (Angiotensin II type 1 Receptor), anti-ET_AR- (Endothelin-1 Receptor) und anti-PAR-1- (Proteinase-Activating-Receptor 1) autoantibody levels.

Results

There was no significant difference of the FMD in patients with lSSc ($5.4\% \pm 3.8\%$) compared to patients with dSSc ($4.9\% \pm 4.5\%$). Endothelial function correlated significantly inversely with patients age ($r = -0.267$, $p = 0.022$). Women had slightly better FMD values compared to male participants ($5.7\% [8.3-2.9\%]$ vs. $2.7\% [4.4-0.0\%]$, $p = 0.058$). There was no significant association between FMD values and the activity score index used by EUSTAR ($r = -0.63$, $p = 0.601$). Furthermore there was neither a significant association between endothelial function and clinical (vascular) disease manifestations nor between FMD values and cardiovascular risk factors. Regarding anti-AT₁R-, anti-ET_AR- und PAR1- autoantibodies no significant correlation between autoantibody serum blood levels and FMD was observed.

Conclusion

Endothelial dysfunction is equally present in lSSc and dSSc. It progresses along with age, and there seems to be a link between impaired endothelial function, higher BSR and higher mRSS. Beyond that, endothelial function is not related to other SSc manifestations, and there seems to be no correlation between FMD and traditional cardiovascular risk factors in SSc patients. Prospective studies are needed to confirm these findings in larger cohorts together with defined clinical outcomes.

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Systemische Sklerose

1.1.1 Definition

Bei der systemischen Sklerose (SSc) handelt es sich um eine heterogene Multiorganerkrankung, die mit einer Störung des Immunsystems, einer Fibroblastenaktivierung und progressiver Fibrose sowie einer funktionellen und strukturellen Schädigung der kleinen Blutgefäße einhergeht.

Sie wird, wie auch der systemische Lupus erythematodes (SLE) oder das Sjögren Syndrom, der Gruppe der Kollagenosen zugeordnet. Die unter diesem Oberbegriff zusammengefassten Erkrankungen sind durch autoimmunologisch bedingte Prozesse gekennzeichnet, welche sich vorrangig am Bindegewebe abspielen.

Der im Sprachgebrauch häufig verwendete Begriff „Sklerodermie“ leitet sich von den griechischen Begriffen „skleros“ und „derma“ ab und bedeutet „harte Haut“. Es existieren Erkrankungen, bei denen sich die fibrotischen Prozesse auf die Haut beschränken und beispielsweise in Form einer „Morphea“ manifestieren. Eine Generalisation dieser Krankheitsprozesse hingegen stellt eine gänzlich andere Erkrankungsentität dar.

Im Rahmen der SSc können nahezu alle Körperareale und inneren Organe im Krankheitsprozess involviert sein und zu den unterschiedlichsten klinischen Manifestationen führen.

1.1.2 Klassifikation

ARA-Kriterien 1980

Vorläufige Kriterien für die Klassifikation der SSc wurden bereits 1980 im Rahmen einer multizentrischen Studie durch ein Expertenkomitee der American Rheumatism Association (ARA, seit 1988 American College of Rheumatology (ACR)) vorgestellt [1]. Ziel war es, einen Standard für Studien herzustellen, um die Vergleichbarkeit für Patienten und Patientengruppen verschiedener Zentren zu gewährleisten.

Die Kriterien gelten als erfüllt, wenn entweder das Hauptkriterium oder mindestens zwei der Nebenkriterien vorliegen:

Hauptkriterium:

- Sklerodermie proximal der Fingergrundgelenke

Nebenkriterien:

- Sklerodaktylie
- Grübchenförmige Narben oder Substanzverlust der distalen Fingerweichteile
- Bilaterale basale Lungenfibrose

Für die Kriterien wurde eine Spezifität von 98% und eine Sensitivität von 97% angegeben. Ursprünglich nicht zu diesem Zweck entwickelt, wurden die ARA-Klassifikationskriterien im Verlauf häufig für die Diagnosestellung einer SSc herangezogen. Hierbei zeigte sich, dass sie weniger gut zur Erfassung von frühen Verlaufsformen geeignet waren und eine im Vergleich geringe Sensitivität zur Detektion limitierter Verlaufsformen aufwiesen. Aufgrund der Heterogenität der Erkrankung gab es zahlreiche Versuche, Untergruppen der SSc basierend auf klinischen Merkmalen zu definieren (u.a. [2, 3]).

LeRoy 1988

Die heute am häufigsten genutzte Einteilung der SSc wurde 1988 von *Le Roy et al.* [4] vorgeschlagen, welche die limitiert kutane systemische Sklerose (lcSSc) von der diffus kutanen systemischen Sklerose (dcSSc) unterscheidet (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1: Einteilung der systemischen Sklerose nach *LeRoy et al.*[4]

	diffus kutane systemische Sklerose (dcSSc)	limitiert kutane systemische Sklerose (lcSSc)
Raynaud-Phänomen	innerhalb eines Jahres nach Beginn der Hautveränderungen (Ödem, Sklerose)	seit Jahren (gelegentlich Dekaden)
Hautbefall	am Stamm und an den Akren	begrenzt auf Hände, Gesicht, Füße, Unterarme (akral) oder fehlend
Organbeteiligung	frühe Inzidenz einer interstitiellen Lungenkrankheit, oligurisches Nierenversagen, diffuse gastrointestinale und myokardiale Beteiligung, Sehnenreiben	späte Inzidenz einer pulmonalarteriellen Hypertonie mit und ohne interstitieller Lungenkrankheit, Trigeminalneuralgie, Hautverkalkungen, Teleangiektasien
Kapillarmikroskopie	Dilatation und Destruktion von Nagelfalzkapillaren	Dilatation von Nagelfalzkapillaren, üblicherweise ohne Destruktion
Autoantikörper	Fehlen von ACA, anti-Topoisomerase I-Antikörper (30% der Patienten)	hohe Inzidenz von ACA (Anti-Centromer-Antikörper, 70-80%)

Den Autoren zufolge ist die Diagnose einer lcSSc bereits möglich, wenn sich zusätzlich zu einem Raynaud-Phänomen entweder ein pathologischer Befund in der Kapillarmikroskopie

zeigt oder Anti-Centromer-Antikörper (ACA) nachgewiesen werden.

Die Kategorie lcSSc umfasst auch Symptome, welche unter dem Begriff „CREST-Syndrom“ zusammengefasst werden (Calcinosis cutis, Raynaud-Phänomen, Motilitätsstörungen des Ösophagus, Sklerodaktylie, Teleangiektasien). Da die Kategorie lcSSc allerdings viel eher die Heterogenität der Erkrankung darstellt und ein „CREST-Syndrom“ auch nicht immer vollständig vorliegen muss, sollte sie diesem als Diagnose vorgezogen werden.

In der klinischen Terminologie haben sich die vereinfachten Begriffe der limitierten SSc (lSSc) und diffusen SSc (dSSc) etabliert und werden auch in der vorliegenden Arbeit verwendet.

1.1.3 Epidemiologie

Die SSc ist eine seltene Erkrankung, die weltweit vorkommt. Die Häufigkeit der Erkrankung wird in der Literatur unterschiedlich angegeben und variiert abhängig von Klassifikation und geographischer Lokalisation mit einer Inzidenz von 10.9-43/ 1 Million Neuerkrankungen pro Jahr und einer Prävalenz von 56-341/ 1 Million [5–7]. Bei Menschen mit schwarzer Hautfarbe ist die Prävalenz etwas höher als bei Menschen mit weißer Hautfarbe [8], sie scheint außerdem in Populationen europäischer Herkunft höher zu sein als in asiatischen Gruppen [9]. Im Vergleich zu Menschen mit weißer Hautfarbe sind Patienten mit schwarzer Hautfarbe bei der Diagnosestellung jünger und haben häufiger die diffuse als die limitierte Verlaufsform der SSc [8]. Für die in Nordamerika lebenden Choctaw-Indianer wurde bisher die höchste Prävalenz mit 469 Erkrankten je 100 000 Einwohner angegeben [10].

Das mittlere Alter bei Diagnosestellung der SSc liegt zwischen dem 30. und 50. Lebensjahr [11].

Frauen sind mit einer Ratio von 3-14:1 häufiger betroffen als Männer [11, 12]. Die SSc findet sich außerdem häufiger in betroffenen Familien (1.6%) als in der Allgemeinbevölkerung (0.026%). Eine positive Familienanamnese wird als höchster Risikofaktor für das Auftreten der Erkrankung gewertet [13].

Die Mortalität der SSc ist insgesamt hoch [14, 15]. Faktoren, die einen negativen Einfluss auf das Überleben zeigten, sind unter anderem männliches Geschlecht und ein höheres Alter bei Diagnosestellung [8]. Außerdem wurde für Patienten mit dSSc im Vergleich zu Patienten mit limitierter Verlaufsform eine kürzere Lebenserwartung nachgewiesen [16, 17]. Von allen Kollagenosen wird für die dSSc die höchste Mortalität mit einer 10-Jahres Überlebensrate von 55% angegeben [8].

1.1.4 Ätiologie

Die Ätiologie der SSc ist bis heute nicht bekannt. Aufgrund der Komplexität und Heterogenität der Erkrankung ist davon auszugehen, dass kein einzelner Faktor allein für die Erkrankungsentstehung verantwortlich sein kann.

Sowohl familiäre Häufung der Erkrankung als auch phänotypische Unterschiede zwischen Patienten unterschiedlicher Herkunft und Ethnizität legen nahe, dass genetische Einflüsse bei der Erkrankungsentstehung eine Rolle spielen [13, 18, 19]. So ließen sich unter anderem SSc-assoziierte genetische Polymorphismen für Cytokine, Cytokinrezeptoren und extrazelluläre Matrixproteine auffinden [20]. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass bestimmte HLA (human leukocyte antigen) Klasse II Allele mit verschiedenen klinischen Phänotypen und Autoantikörpern (AK) assoziiert sind [20–22]. Weitere Gene, die Bestandteil von Forschungsansätzen sind, kodieren unter anderem für CTGF (connective tissue growth factor)

und IRF5 (interferon regulatory factor 5) [23, 24].

Ausserdem werden sowohl infektiöse als auch nicht-infektiöse Umwelteinflüsse in der Ätiopathogenese der SSc oder einer SSc-ähnlichen Symptomatik diskutiert. Es besteht die Hypothese, dass eine latente virale Infektion (in diesem Zusammenhang am häufigsten erwähnt: CMV (Cytomegalievirus)) über molekulares Mimicry oder auch direkte Schädigungsmechanismen möglicherweise vaskuläre, fibrotische oder immunologische Störungen induziert [25, 26].

Eine Metaanalyse verschiedener epidemiologischer Studien durch *McCormic et al.* konnte zeigen, dass eine berufsbedingte Exposition mit Siliciumdioxid als Risikofaktor für die Entwicklung einer SSc, insbesondere bei Männern, angesehen werden kann [27]. Andere Arbeiten postulieren einen Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber organischen Lösungsmitteln und der Entwicklung einer SSc [28, 29]. Darüber hinaus werden Agentien wie Bleomycin, Vinylchlorid oder auch L-Tryptophan als mögliche Auslöser für SSc-ähnlicher Symptome diskutiert [30, 31].

Eine Gruppe von Autoren vermutet, dass durch Mikrochimärismus eine graft-versus-host ähnliche Reaktion initiiert wird, welche in der Ausbildung einer SSc mündet [32–34]. Dabei bezeichnet der Begriff „Mikrochimärismus“ die Persistenz fremder Zellen im Körper, was am häufigsten durch plazentaren Übertritt fetaler oder mütterlicher Zellen während der Schwangerschaft verursacht wird [32].

1.1.5 Pathogenese

Auch die Pathogenese der SSc ist komplex und bleibt bis heute nur unvollständig verstanden. Generell wird von einem Zusammenspiel aus mikrovaskulärer Dysfunktion, vaskulärer Schädigung, einer überschießenden Autoimmunreaktion sowie einer Bindegewebsentzündung und -fibrose ausgegangen, wobei aktivierte Fibroblasten als Effektorzellen angesehen werden [35–39].

Frühe Veränderungen finden im Bereich der Gefäße statt. Hier lassen sich Zeichen einer endothelialen Aktivierung, Schädigung und Apoptose sowie eine Störung der Kapillararchitektur und -dichte schon vor Auftreten einer Fibrose nachweisen [40, 41].

Laborchemische Marker wie Endothelin-1 (ET-1), Thrombomodulin, von Willebrand Faktor und verschiedene Adhäsionsmoleküle wie VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) und E-Selectin (endothelial leukocyte adhesion molecule-1) kommen bei Patienten mit SSc in erhöhten Konzentrationen vor, was als Zeichen einer endothelialen Aktivierung und Schädigung interpretiert wird [42–46].

Die Endothelschädigung führt zum Verlust der Barrierefunktion und einer erhöhten Gefäßpermeabilität. Es kommt zur Adhäsion und Migration von Leukozyten (v.a. CD4⁺T-Zellen und Monozyten) in die extrazelluläre Matrix sowie zur Ausbildung eines perivaskulären Ödems [47].

Die Überproduktion von Zytokinen (v.a. IL-4, TGF- β) und Wachstumsfaktoren wie beispielsweise PDGF (platelet-derived growth factor) und CTGF führt zur Aktivierung von Fibroblasten [39]. Zusätzlich zu seinen vasokonstriktorisches Eigenschaften zeigt auch ET-1 pro-fibrotische Wirkungen und scheint eine maßgebliche Rolle bei der Initiierung der Gewebsfibrose zu spielen [48–50].

Im Prozess der Endothelschädigung und Fibroblastenaktivierung sind auch B-Lymphozyten beteiligt, die darüber hinaus durch die Produktion von AK eine wichtige Rolle innehaben. Diese AK können sich sowohl gegen Strukturen des Zellkerns (ANA, antinukleäre Antikörper) als auch Endothelzellen und Fibroblasten mit aktivierenden oder schädigenden

Eigenschaften richten [39, 47, 51, 52]. *Baroni et al.* konnten außerdem bei SSc-Patienten AK gegen den PDGF-Rezeptor mit agonistischer Aktivität nachweisen [53]. Die Bedeutung der ANA im Rahmen der Pathogenese ist nach wie vor ungeklärt. Allerdings ist ihre Bestimmung für Diagnosestellung und Differenzierung einzelner Subtypen unverzichtbar im klinischen Assessment.

Durch die Endothelschädigung selbst wird auch die Koagulation stimuliert; eine Aktivierung des Gerinnungssystems mit Thrombozytenverbrauch und vermehrter Freisetzung von PDGF sowie eine gestörte Fibrinolyse sind die Folge [54].

Funktionell kommt es bei der Erkrankung zum Überwiegen vasokonstriktorischer Eigenschaften, was sich unter anderem an der hohen Prävalenz des Raynaud-Phänomens bei Patienten mit SSc ausdrückt [38]. Es wird generell vermutet, dass der Serumspiegel des Vasodilatators Stickstoffmonoxid (NO) bei Patienten mit SSc reduziert ist, obwohl durch Anwendung unterschiedlicher Messmethoden hierzu kontroverse Ergebnisse vorliegen [55, 56].

Histopathologisch ist eine Intimaproliferation und -verdickung im Bereich der Arteriolen nachweisbar, die zu einer Verengung der Gefäße und einer mikrovaskulären Obliteration führt. Perivaskulär ist neben den Entzündungszellinfiltraten die Ablagerung extrazellulärer Matrixkomponenten, insbesondere von Kollagenfibrillen, charakteristisch [41, 57–59].

Veränderungen im Bereich der Kapillaren können bereits im frühem Erkrankungsstadium *in vivo* durch Anwendung der Kapillarmikroskopie der Nagelfalz beurteilt werden [60]. Das typische Muster bei Patienten mit SSc besteht aus einer Reduktion der kapillären Dichte, einer gestörten Architektur mit Megakapillaren sowie Mikrohämorrhagien und avaskulären Arealen im Spätstadium der Erkrankung [61]. Der verringerte Blutfluss im Bereich der Arteriolen und Kapillaren hat eine Gewebhypoxie zur Folge, was klinisch in Form von Hautulzerationen in Erscheinung treten kann.

Trotz Gewebshypoxie und nachweislich erhöhter Serumlevel pro-angiogenetischer Faktoren wie VEGF (vascular endothelial growth factor), IL-8 und bFGF (basic fibroblast growth factor) [62] findet keine effektive Angiogenese statt [38, 61]. *Margheri et al.* konnten *in vitro* nachweisen, dass die angiogenetische Antwort endothelialer Zellen von Patienten mit SSc auf VEGF und bFGF verglichen mit gesunden Probanden eingeschränkt ist [63].

Zusätzlich scheint die Vaskulogenese, also die Formierung neuer Gefäße durch Rekrutierung und Differenzierung endothelialer Progenitorzellen (EPCs) des Knochenmarks, eingeschränkt zu sein [64]. Hierfür werden insbesondere funktionelle Einschränkungen der EPCs in reife Endothelzellen zu differenzieren verantwortlich gemacht [65, 66]. Inwiefern zusätzlich eine quantitative Reduktion der EPCs vorliegt, wird kontrovers diskutiert [65, 67, 68].

1.1.6 Klinische Manifestationen

Neben der Hautbeteiligung kann die SSc zu einer Involvierung und Dysfunktion weiterer Organe bis hin zum Organversagen führen. Die Beteiligung innerer Organe, insbesondere von Herz und Lunge, haben maßgeblichen Einfluss auf die Prognose und sind insgesamt mit einer erhöhten Mortalität assoziiert [69, 70]. Eine kleine Übersicht über mögliche Erkrankungs- und Organmanifestationen bei SSc ist in der Abbildung 1 dargestellt.

Die frühe Erkrankungsphase ist meist durch uncharakteristische Symptome wie Fatigue, Arthralgien, Schmerzen und Schlafstörungen gekennzeichnet.

Vaskuläre Manifestationen können früh im Erkrankungsprozess auftreten und umfassen unter anderem Kapillarschädigungen und die Entwicklung eines Raynaud-Phänomens. Mit Voranschreiten des Krankheitsprozesses sind vaskuläre Komplikationen auch im Bereich

innerer Organe möglich [64, 71].

Raynaud-Phänomen

Mehr als 90% der Patienten entwickeln ein sekundäres Raynaud-Phänomen, was häufig das erste Symptom der SSc darstellt und anderen Erkrankungserscheinungen um mehrere Jahre vorausgehen kann [41]. Im Gegensatz zum primären Raynaud-Phänomen, bei dem keine zugrundeliegende Erkrankung festgestellt werden kann, kommt es beim sekundären Raynaud-Phänomen auch zu strukturellen Veränderungen der beteiligten Gefäße.

Das Raynaud-Phänomen ist gekennzeichnet durch plötzlich eintretende, reversible Vasospasmen kleiner Arterien und Arteriolen vor allem im Bereich der Finger und Zehen. Es wird durch Kälte oder emotionalen Stress getriggert. Typischerweise steht zu Beginn eine Abblässung der akralen Struktur („weiße Ischämie“), gefolgt von einem durch reaktive Hyperämie verursachten Erythem. In schweren Fällen kann sich nach der Ischämie und vor Beginn der Hyperämie noch zusätzlich eine Zyanose ausbilden, was zum charakteristischen „Tricolore-Phänomen“ führt [41, 72, 73].

Weitere vaskuläre Manifestationen der Akren

Vaskuläre Manifestationen an den Akren können auch in Form grubchenförmiger Narben („pitting scars“) bis hin zur Entstehung digitaler Ulzerationen und Nekrosen auftreten. Letztere werden durch Mikroembolien oder vasospastische und fibrotische Veränderungen der kleinen peripheren Gefäße ausgelöst und führen zum regelrechten Substanzverlust insbesondere im Bereich der Endphalangen.

Hautbeteiligung

Die Hautfibrose beginnt häufig zuerst im Bereich der Finger, der Hände und dem Gesicht, kann sich aber über sämtliche Körperareale inklusive Rumpf und Teile der Extremitäten erstrecken. Vor der charakteristischen Fibrose kann es zu einer ödematösen Schwellung der Haut kommen, welche im Bereich der Hände auch als „puffy hands“ bezeichnet wird. Im Verlauf entwickelt sich eine Zunahme der Hautdicke und eine Reduktion der Verschieblichkeit gegenüber dem darunterliegenden Gewebe, klinisch imponiert eine pathologische Gewebeverhärtung („Induration“). Durch die straffe, gespannte Haut kann sich eine Sklerose der Akren („Sklerodaktylie“) entwickeln, Kontrakturen sind möglich. Die Sklerose kann im Gesicht zur Ausbildung einer „mimischen Starre“, zu einer Verkleinerung der Mundöffnung („Mikrostomie“) mit charakteristischer radiären Faltenbildung („Tabaksbeutelmund“) sowie der Verkürzung des Zungenbändchens führen. Dermale Läsionen können auch in Form subkutaner Kalzifizierungen (Calcinosis cutis) vorkommen.

Pulmonale Beteiligung

Eine Lungenbeteiligung bei SSc kommt bei mehr als 70% der Patienten vor [75] und kann sowohl zu interstitiellen Veränderungen (ILD, interstitielle Lungenerkrankung) im Sinne einer fibrosierenden Alveolitis und Lungenfibrose als auch zu mikrovaskulären Schäden und nachfolgenden Umbauvorgängen mit reduzierter Perfusion im Bereich der Lungengefäße führen [76].

Hautfibrose

ISSc: begrenzt auf Gesicht, Extremitäten distal der Ellenbogen/Knie oder fehlend

dSSc: am Rumpf & an den Akren

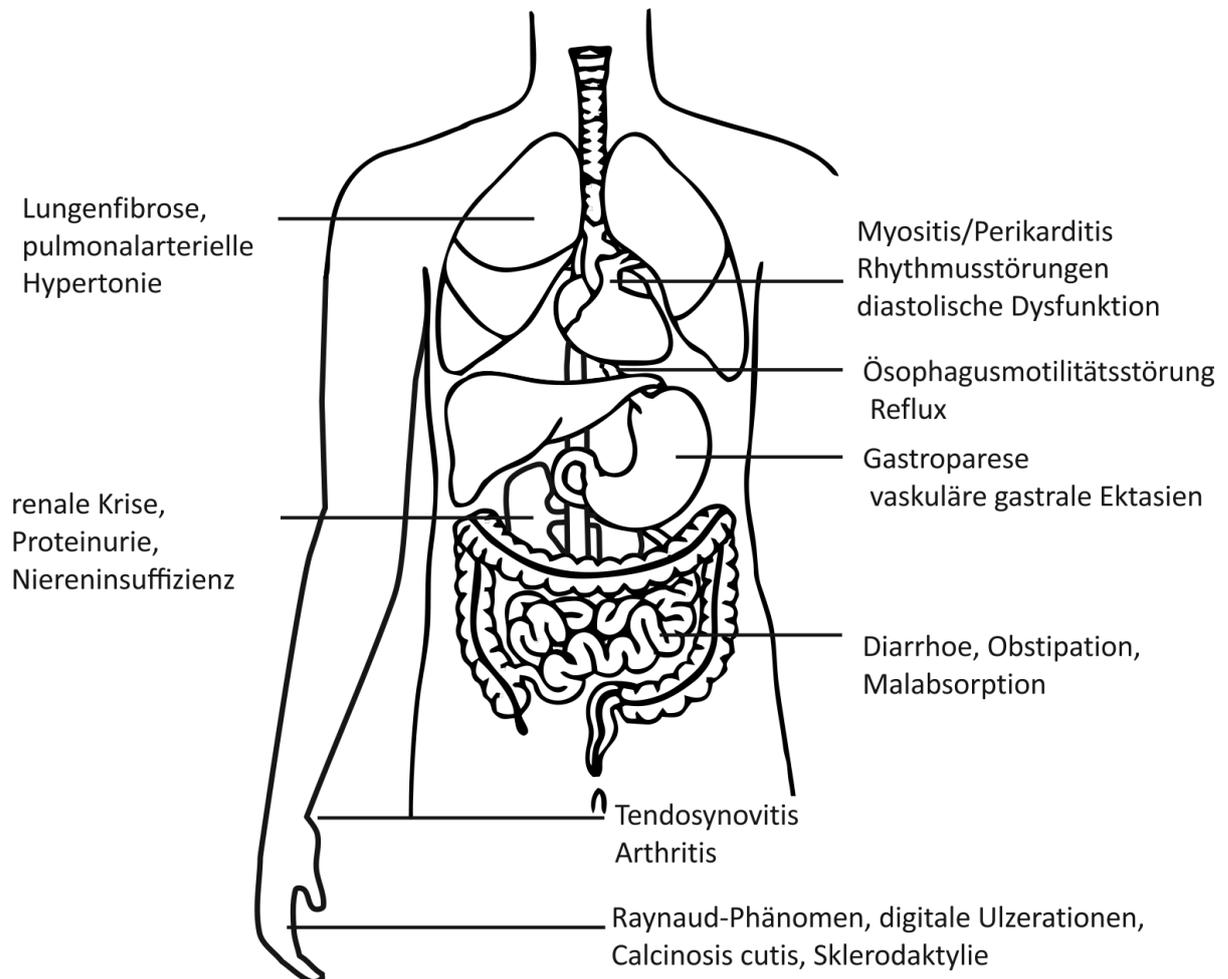


Abbildung 1: Erkrankungs- und Organmanifestationen bei SSc (modifiziert aus [74])

Die Fibrose kann frühzeitig eine Abnahme der CO (Kohlenstoffmonoxid)-Diffusionskapazität verursachen und eine restriktive Ventilationsstörung auslösen.

Durch die vaskulären Veränderungen ist die Entwicklung einer pulmonalarteriellen Hypertonie (PAH) möglich. Führendes klinisches Merkmal der pulmonalen Beteiligung ist die Dyspnoe sowie eine allgemeine Leistungsminderung. Die Prävalenz der PAH bei SSc wird mit 10-15% angegeben und kann eine Rechtsherzbelastung und -hypertrophie (Cor pulmonale) bis hin zum Rechtsherzversagen verursachen [64]. Die Lungenfibrose ist häufiger mit der diffusen Form der SSc assoziiert und kommt dort in ca. 60% der Fälle vor [77].

Renale Beteiligung

Unspezifische renale Pathologien wie eine Proteinurie, über die Norm erhöhte Kreatininwerte sowie eine Hypertonie können auf eine renale Beteiligung der SSc hinweisen. Allerdings

sind auch multiple Niereninfarkte oder die Entwicklung einer renalen Krise (SRC, scleroderma renal crisis) auf dem Boden mikroangiopathischer Gefäßläsionen möglich.

Die SRC tritt bei 10-15% der Patienten auf und ist häufiger mit der dSSc als mit der ISSc assoziiert. Charakteristisch für die SRC ist das Auftreten einer malignen Hypertension, einer Proteinurie sowie eines oligurischen Nierenversagens zusammen mit einer mikroangiopathischen Hämolyse und Thrombozytopenie [78, 79]. In Autopsie-Studien ließ sich bei 60-80% der verstorbenen Patienten mit dSSc eine mit der SSc-assoziierte Nierenschädigung nachweisen [80, 81].

Kardiale Beteiligung

Eine kardiale Involvierung kann sich neben sekundären Komplikationen durch eine SSc-assoziierte Lungenbeteiligung auch primär auf der Ebene von Endo-, Myo- und Perikard manifestieren und vielfältige Störungen verursachen. Diese umfassen die Entwicklung von Myo- und Perikarditiden sowie Perikardergüssen oder auch Störungen im Bereich des Reizleitungssystems. Myokardfibrosen sind ein weiteres Kennzeichen einer kardialen Beteiligung und entstehen vermutlich durch Vasospasmen und Schäden der kleinen Gefäße [82]. Eine myokardiale Erkrankungsmanifestation kann beispielsweise die Entwicklung systolischer oder diastolischer Funktionsstörungen nach sich ziehen.

Beteiligung des Gastrointestinaltrakts

Nahezu der gesamte Verdauungstrakt kann im Erkrankungsprozess der SSc beteiligt sein und bis zu 90% der Patienten geben gastrointestinale Beschwerden an [83, 84].

Häufig liegt im Bereich des Ösophagus eine Hypomotilität vor, die zu Schluckbeschwerden (Dysphagie) und einer chronischen Refluxsymptomatik führen kann. Übelkeit, Völlegefühl und Erbrechen sind mögliche Symptome einer Gastroparese, darüber hinaus können antrale vaskuläre Ektasien gastrale Blutungen und eine konsekutive Anämie verursachen. Weiterhin sind Obstipations- und Diarrhoebeschwerden bis hin zur Stuhlinkontinenz im Rahmen der Grunderkrankung möglich [84]. In Abhängigkeit von der Schwere der gastrointestinalen Beteiligung können Malabsorptionsstörungen auftreten.

Muskuloskeletale Beteiligung

Arthralgien und Tendosynovitiden sowie Myalgien und Muskelschwäche bis hin zur Muskelatrophie können auf eine muskuloskeletale Involvierung der SSc hinweisen.

Beteiligung des Nervensystems

Eine Beteiligung des Nervensystems ist selten, kann aber beispielsweise als Karpaltunnelsyndrom, Trigeminusneuralgie oder auch als periphere Polyneuropathie in Erscheinung treten.

ISSc und dSSc

Die dSSc imponiert durch eine rapide Fibrosierung von Haut, Lunge und weiteren inneren Organen, während bei der limitierten Verlaufsform vaskuläre Manifestationen im Vorder-

grund stehen und der Fibrosierungsprozess im Vergleich geringer ausfällt und langsamer fortschreitet [85]. Insgesamt kommt die lSSc häufiger vor als die dSSc (vgl. *Meier et al.*, EUSTAR Report 2012 [77]).

Einige klinische Charakteristika, wie beispielsweise eine Lungenfibrose, digitale Ulzerationen, eine SRC oder Tendosynovitiden, treten häufiger bei Patienten mit dSSc auf als bei Patienten mit lSSc [75, 77]. ANA können bei ungefähr 90% der Patienten nachgewiesen werden, wobei anti-Topoisomerase I-AK (Synonym: anti-Scl 70-AK) häufiger mit dSSc und ACA häufiger mit lSSc assoziiert sind, prinzipiell aber, entgegen früherer Auffassungen, jeweils in beiden Gruppen vorkommen können [77].

1.2 Vaskuläres Endothel

1.2.1 Physiologische Eigenschaften des Endothels

Das Endothel ist ein Zellverband aus einschichtigem Plattenepithel, welches Herzzräume, Blut- und Lymphgefäße auskleidet.

Das auto- und parakrin wirkende vaskuläre Endothel nimmt durch Produktion zahlreicher Faktoren Einfluss in verschiedenste Regulationsabläufe. Dies umfasst die Sicherstellung der Barrierefunktion durch selektive Permeabilität, die Regulation der Adhäsion von Entzündungszellen und Blutplättchen durch Präsentation bestimmter Adhäsionsmoleküle an der Zelloberfläche (z.B. Selektine, Integrine), die Bildung und Sekretion antithrombotischer Substanzen sowie wichtige Funktionen in der Angiogenese und Wundheilung [86–88]. Die Regulation von Gefäßtonus und Blutfluss beruht neben neurogenen, myogenen und humoral-hormonellen Einflüssen auch auf endothelvermittelten Mechanismen.

Endothelzellen setzen dabei zahlreiche Stoffe frei, die vasoaktive Eigenschaften aufweisen. Vasodilatatorisch relevant wirksam sind vor allem NO und Prostazyklin (PGI_2) [87].

Eine besondere Rolle nimmt dabei NO ein, das durch die endotheliale Stickstoffmonoxid Synthase (eNOS) aus der Aminosäure L-Arginin gebildet wird [89]. NO führt über Aktivierung der Guanylatzyklase zu einer cGMP (zyklisches Guanodinmonophosphat)-vermittelten Erschlaffung der Gefäßmuskulatur. Darüber hinaus wirkt es luminal hemmend auf die Adhäsion und Migration von Leukozyten, die Thrombozytenaggregation und die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen [88, 90, 91].

PGI_2 selbst hat ebenso antithrombogene Eigenschaften und führt unabhängig von der NO-Synthase durch Aktivierung der Adenylylzyklase zu einem Anstieg von cAMP (zyklisches Adenosinmonophosphat), was wiederum eine Relaxation der subendothelialen glatten Gefäßmuskulatur bewirkt [88].

Auch vasokonstriktorische Mediatoren werden durch das Endothel freigesetzt, wobei hier der Gruppe der Endotheline eine wichtige Rolle zukommt. ET-1 wird von den Endothelzellen gebildet und übt neben seiner starken vasokonstriktorischen (über die Bindung an ET_A -Rezeptoren) und auch pro-fibrinogenen Wirkung stimulierenden Einfluss sowohl auf die Proliferation glatter Muskelzellen als auch das Wachstum von Herzmuskelzellen aus [49, 92].

Gefäße sind in der Lage infolge einer Blutflusszunahme und der damit verbundenen Erhöhung der auf das Endothel wirkenden Scherkräfte mit einer Vasodilatation zu reagieren. Dieser Prozess wird auch flussabhängige oder flussmedierte Vasodilatation (flow-mediated dilatation, FMD) genannt und es besteht die generelle Annahme, dass er eine endothelabhängige und weitestgehend NO-vermittelte Funktion reflektiert [93]. Die auf das Endothelium einwirkenden Scherkräfte führen zu einer Öffnung von Kaliumkanälen, was eine Veränderung

des Membranpotentiels und einen Kalzium-Einstrom zur Folge hat. Intrazellulär bewirkt Kalzium eine Aktivierung der eNOS und eine Erhöhung von NO, was wiederum zur Vasodilatation führt [94]. Durch diesen Mechanismus ist zusätzlich zu den lokalen Effekten vasoaktiver Metabolite auch eine Erweiterung vorangeschalteter größerer Arterien möglich. Langfristige Anpassungsmechanismen bei chronischer Stimulation sind eine Steigerung der eNOS-Aktivität durch Phosphorylierung und eine Steigerung der Genexpression der NO-Synthase [87].

1.2.2 Bestimmung der Endothelfunktion

Ein intaktes Endothel ist essentiell für die vaskuläre Homöostase. Es erhält das Gefäß in Ruhe im relativ dilatierten Zustand, wirkt über die Produktion verschiedener Metabolite (v.a. NO) hemmend auf die Proliferation glatter Muskelzellen und hat darüber hinaus auch antiinflammatorische und antithrombogene Eigenschaften [88].

Heute wird davon ausgegangen, dass die endotheliale Funktion als Reflektion für die allgemeine vaskuläre Gesundheit eines Patienten verstanden werden kann, und dass bereits das Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion noch vor dem Auftreten einer manifesten kardiovaskulären Erkrankung einen interventionsbedürftigen Zustand darstellt.

Die klinische Bestimmung der Endothelfunktion gestaltet sich dabei als herausfordernd, da das Endothel eine Vielzahl von Aufgaben übernimmt, welche nicht alle durch eine einzige Messung untersucht werden können. Die meisten Verfahren beurteilen die endotheliale Funktion exemplarisch anhand der endothelvermittelten Vasodilatation, welche v.a. auf der Freisetzung von NO beruht [88, 95].

Die vasodilatorische Reaktion kann experimentell durch verschiedene Stimuli ausgelöst werden:

- scherkraftvermittelte endothelabhängige Vasodilatation im Rahmen einer Hyperämie (flussmedierte Vasodilatation)
- medikamentös induzierte endothelabhängige Vasodilatation durch Applikation von z.B. Acetylcholin (Ach)
- medikamentös induzierte endothelunabhängige Vasodilatation durch Applikation von z.B. Dipyridamol, Nitroglycerin
- sonstige physiologische/physikalische Reize (z.B. Bewegung, Kälteprovokation)

Wie bereits unter 1.2.1 beschrieben kommt es im Rahmen einer Blutflusszunahme bei intaktem Endothel scherkraftvermittelt zu einer Freisetzung von NO. Eine flussmedierte Vasodilatation ist die Folge.

Auch Ach führt bei gesunden Gefäßen zu einer endothelialen NO-Freisetzung und dadurch zu einer Gefäßerweiterung. Liegt hingegen eine endotheliale Schädigung oder dysfunktionelles Endothel vor, ergibt sich durch direkte Stimulation muskarinerge Ach-Rezeptoren der glatten Gefäßmuskulatur eine Vasokonstriktion [96].

Im Gegensatz zu Ach führt Adenosin durch die Aktivierung eigener Rezeptoren endothelunabhängig über eine cAMP-Erhöhung zur direkten Dilatation der glatten Gefäßmuskulatur, und über eine re-uptake Inhibition von Adenosin löst auch die Applikation von Dipyridamol indirekt eine gefäßerweiternde Reaktion aus [97]. Nitroglycerin als externer NO-Donor fungiert ebenfalls als endothelunabhängiger Vasodilatator und kann zur Überprüfung der maximalen Dilatierfähigkeit eines Gefäßes eingesetzt werden (NMD, nitroglycerine-mediated

dilation).

Die Endothelfunktionsmessung findet ihre Anwendung bisher vor allem zu Studienzwecken, und die existierenden Verfahren weisen mitunter erhebliche Unterschiede bezüglich ihrer Reproduzierbarkeit, ihrer prognostischen Bedeutung und ihrem Potential für die Anwendung in der klinischen Routinediagnostik auf [95].

Es existieren sowohl invasive als auch nicht invasive Verfahren, welche die Endothelfunktion im Bereich großer Arterien oder im Bereich kleinerer Gefäße untersuchen. Dabei werden nicht invasive Methoden bevorzugt eingesetzt, da diese die Untersuchung einer größeren Anzahl von Patienten erlauben und mehrfach wiederholt werden können. Die invasiven Verfahren haben, obgleich hiermit die Endothelfunktion ursprünglich erstmals evaluiert wurde, v.a. aufgrund ihres hohen Risikopotentials zunehmend an Bedeutung verloren. Sie sollen in dieser Arbeit nur der Vollständigkeit halber erwähnt werden.

Eine direkte Bestimmung von NO im Blutserum ist zur Evaluation der Endothelfunktion ungeeignet. Dies liegt zum Einen an der sehr geringen Halbwertszeit von NO, welche u.a. durch Reaktion mit anderen Stoffwechselmetaboliten zustande kommt. Darüber hinaus ist nicht alles bioaktiv wirksame NO im Blutserum nachweisbar, da NO nicht nur nach luminal sondern auch nach abluminal transportiert wird und dort direkt an der glatten Gefäßmuskulatur wirksam ist [87].

1.2.2.1 Nicht invasive Verfahren

FMD-Messung mittels Sonographie

Die sonographische Bestimmung der Endothelfunktion mittels flussmediierter Vasodilatation (FMD) eines großen peripheren Gefäßes wurde erstmal 1992 von *Celermajer et al.* [98] beschrieben. Bei diesem Verfahren wird die FMD mittels hochauflösendem Gefäßultraschall im Rahmen einer reaktiven Hyperämie beurteilt. Die Induktion der reaktiven Hyperämie erfolgt dabei durch eine transiente Unterbindung des arteriellen Zustroms durch eine Blutstauungsmanschette. Durch die nach Ablassen der Stauung folgende Blutflusszunahme und die damit verbundene Erhöhung der auf das Endothel wirkenden Scherkräfte erfolgt physiologischerweise eine Erweiterung des Gefäßes. Der maximale Gefäßdurchmesser während der hyperämischen Phase wird als prozentuale Änderung bezüglich des Ausgangsdurchmessers (Baseline-Diameter) angegeben und reflektiert die endothelabhängige Vasodilatation [93].

Es konnte gezeigt werden, dass der gefäßdilatierende Effekt im Rahmen der Hyperämie v.a. NO-vermittelt erfolgt und somit Ausdruck einer intakten Endothelfunktion ist [99–101]. Durch die Applikation von Nitroglycerin als externer NO-Donor kann die endothelunabhängige Vasodilatation (NMD) und somit die maximale Dilatierfähigkeit des Gefäßes überprüft werden.

Die meisten Studien, welche die Endothelfunktion mittels dieser Methode sonografisch bestimmten, führten die Messung im Bereich der A.brachialis durch. Es konnte gezeigt werden, dass die auf diese Weise erhobenen Resultate reproduzierbar sind [102], mit den Ergebnissen der invasiv bestimmten koronaren Endothelfunktion korrelieren [103], einen hohen prädiktiven Wert für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse haben [104] und mit traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren assoziiert sind [105, 106].

Digitale Pulsamplitudentonometrie (PAT)

Eine weitere Möglichkeit der nicht-invasiven Endothelfunktionsmessung stellt die digitale Pulsamplitudentonometrie (PAT, pulse amplitude tonometry) dar. Hierbei wird die arterielle Pulswellenamplitude mittels beidseits auf den Fingerkuppen (Dig. II oder III) angebrachter Cuffs ermittelt und der periphere arterielle Tonus bestimmt. Für die Messung der Endothelfunktion erfolgt zunächst die Aufzeichnung des PAT-Signals in Ruhe. Nach Induktion einer Ischämiephase am Untersuchungsarm (durch eine zuvor angebrachte und auf suprasystolische Werte aufgepumpte Manschette) wird die Durchblutungsänderung nach Ablassen der Stauung im Rahmen einer reaktiven Hyperämie beurteilt. Die Aufzeichnung des PAT-Signals der kontralateralen Hand dient der internen Kontrolle systemischer Effekte, und mittels integrierter Software wird eine PAT Ratio aus den gemessenen Werten ermittelt [95, 107, 108]. Auch bei dieser Messung ist der untersuchte Effekt NO-vermittelt, und eine reduzierte PAT Ratio konnte bereits für Patienten mit KHK (koronarer Herzkrankung) nachgewiesen werden [108]. Vorteile des Verfahrens sind neben der guten Anwendungsmöglichkeit die Reduktion der interobserver Variabilität durch die integrierte automatische Analysesoftware [95]. Da es sich bei der PAT Messung um eine relativ neue Methode zur Endothelfunktionsbestimmung handelt, ist die Datenlage nicht so ausführlich wie für die FMD-Messung der A. brachialis. Es konnte allerdings bereits gezeigt werden, dass die PAT Ratio mit einzelnen kardiovaskulären Risikofaktoren assoziiert ist, sich das Profil dieser Risikofaktoren allerdings in einigen Punkten von dem unterscheidet, für das ein Zusammenhang zur mittels FMD bestimmten Endothelfunktion hergestellt werden konnte [105, 109].

1.2.2.2 Invasive Verfahren

Endothelfunktion der Koronararterien

Die Endothelfunktion der epikardialen Koronararterien kann mittels quantitativer Koronaranalyse (QCA) im Herzkatheterlabor bestimmt werden. Hierbei wird infolge einer intrakoronaren Infusion mit Acetylcholin (Ach) beurteilt, in welchem Ausmaß die Gefäße oder einzelne Gefäßabschnitte mit einer Erweiterung oder einer Vasokonstriktion reagieren. Darstellung und Auswertung der vaskulären Reaktion ist durch quantitative Koronangiographie oder durch intravaskulären Ultraschall möglich [90]. Eine vasokonstriktorische Reaktion im Rahmen der QCA würde eine Dysfunktion beziehungsweise eine Schädigung des Endothels im entsprechenden Gefäßabschnitt aufzeigen [88].

Die QCA wurde erstmals 1986 von *Ludmer et al.* [110] beschrieben und stellt den „Goldstandard“ der Verfahren zur Bestimmung der Endothelfunktion dar, da sie eine genaue Bestimmung der Endothelfunktion direkt im klinisch relevanten koronaren Gefäßbett ermöglicht. Die koronare (myokardiale) Mikrozirkulation kann anhand von koronarer Flussreserve (coronary flow reserve, CFR) und koronarer Flussgeschwindigkeit beurteilt werden. Dabei entspricht die CFR der Ratio aus durch Stimulation hervorgerufener maximaler koronarer (myokardialer) Durchblutung und der Herzdurchblutung in Ruhe. Eine CFR < 2.0 wird als pathologisch angesehen [90]. Invasiv können sowohl CFR als auch koronare Flussgeschwindigkeit sicher mittels Dopplerdraht bestimmt werden.

Die Stimulation der koronaren Hyperämie erfolgt in der Regel durch eine Infusion mit Ach oder Adenosin. Während durch die Applikation von Ach die endothelabhängige Vasodilatation geprüft wird, erfolgt durch eine Infusion mit Adenosin die Beurteilung der gemischt endothelunabhängigen (Dilatation der peripheren Widerstandsgefäße) und endo-

thelabhängigen (flussmediert durch entstandene Hyperämie) Gefäßreaktion[111]. Aufgrund der Notwendigkeit einer Herzkatheteruntersuchung werden beide Verfahren zu Studienzwecken nur limitiert eingesetzt.

Venöse Okklusionsplethysmographie

Eine Evaluation der peripheren vaskulären Funktion ist durch Anwendung der venösen Okklusionsplethysmographie im Bereich der Unterarme möglich.

Bei diesem Verfahren resultiert nach Unterbindung des venösen Abflusses aus dem ungehinderten arteriellen Zustrom eine Umfangszunahme des Unterarms, welche direkt proportional zum arteriellen Blutfluss ist und den vaskulären Widerstand reflektiert [112]. Die Beurteilung der Umfangszunahme erfolgt mittels Plethysmographie.

Durch arterielle Kanulierung und Applikation verschiedener vasoaktiver Substanzen in einen Arm können nun über die Flussänderung endothelabhängige und endothelunabhängige Gefäßfunktion beurteilt werden, wobei der kontralaterale Arm als interne Kontrolle dient. Für diese Methode wird eine gute Reproduzierbarkeit angegeben [113, 114], allerdings ist auch dieses Verfahren aufgrund der Invasivität und der damit verbundenen prozeduralen Risiken nicht für die klinische Routinediagnostik geeignet [90].

1.2.3 Endotheliale Dysfunktion und klinische Bedeutung

Die endotheliale Dysfunktion ist als Folge eines pathologischen Krankheitsprozesses zu verstehen, und mit ihr ist eine Beeinträchtigung sowohl antikoagulatorischer, antiinflammatorischer als auch tonusmodulierender Eigenschaften verbunden [115, 116]. Mit einer Endotheldysfunktion einhergehende klinische Krankheitsbilder sind demzufolge vorrangig durch Vasokonstriktion, Inflammation, Thromboseneigung und Proliferation glatter Gefäßmuskulatur charakterisiert [88].

Als wichtiger Marker der endothelialen Dysfunktion wird in der Literatur eine Einschränkung der endothelabhängigen, flussmedierten Vasodilatation angegeben, die v.a. durch eine reduzierte Bioverfügbarkeit von NO entsteht [90, 93]. Es existieren eine Reihe von Ansätze, die die reduzierte Bioverfügbarkeit an NO zu erklären versuchen. So wird unter anderem diskutiert, dass ein Defizit des Substrates L-Arginin [117] oder des für die Synthese notwendigen Kofaktors Tetrahydrobiopterin [118] für den NO-Mangel verantwortlich sein könnte. In diesem Zusammenhang wird außerdem die Rolle der sogenannten „reactive oxygen species“ (ROS) mit großem Interesse betrachtet [115]. ROS entstehen durch die Aktivität einer Vielzahl von Enzymen und sind Metaboliten des Sauerstoff (z.B. O_2^- , H_2O_2). Sie können als freie Radikale agieren und beispielsweise auf Lipide, DNA (Desoxyribonukleinsäure) und Proteine oxidierende Effekte auslösen. Es konnte nachgewiesen werden, dass oxidiertes LDL (low density lipoprotein) mit erhöhten Spiegeln von asymmetrischem Dimethylarginin (ADMA), einem endogenen kompetitiven Inhibitor der eNOS, einhergeht [119, 120]. *Vergnani et al.* vermuteten außerdem, dass oxidiertes LDL auch für eine geringere Aufnahme von L-Arginin verantwortlich ist [121].

Die endotheliale Dysfunktion ist Ausdruck einer Schädigung des Endothels, muss aber als recht unspezifischer Marker eingestuft werden. Sie konnte unter anderem bei Personen mit kardiovaskulären Risikofaktoren wie beispielsweise arterieller Hypertonie [122–124], Diabetes mellitus [125, 126], Dyslipidämie [127] und Übergewicht [126] sowie bei Rauchern [128] nachgewiesen werden. Sie findet sich außerdem bei Patienten mit Herzinsuffizienz [129, 130], mit KHK [131, 132] und bei Patienten mit peripherer Atherosklerose [133, 134].

In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass sich die Endothelfunktion mit zunehmendem Alter verschlechtert [90, 135]. Daneben konnten auch geschlechtsspezifische Unterschiede festgestellt werden. So wurde bei Männern im Vergleich zu Frauen der gleichen Altersgruppe eine Einschränkung der Endothelfunktion beobachtet [136], und Frauen in der Postmenopause zeigten schlechtere Endothelfunktionswerte als Frauen in der Prämenopause [137, 138]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die am stärksten ausgeprägte altersabhängige Verschlechterung der Endothelfunktion bei Männern deutlich früher (in den Dreißigern) als bei Frauen (nach dem 40. Lebensjahr) eintritt [136]. Insbesondere scheinen reduzierte Östrogenspiegel, wie sie beispielsweise im Rahmen der Menopause vorliegen, mit einer beeinträchtigten endothelialen Funktion einherzugehen [97]. Diese Vermutung wird unter anderem auch dadurch bestärkt, dass die Applikation von Östrogenen in der Postmenopause zu einer deutlichen Verbesserung der Endothelfunktion führen [137, 139]. Es ist auch zu überlegen, ob nicht gar der protektive Effekt der Östrogene wenigstens zum Teil mitverantwortlich für das spätere Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen bei Frauen im Vergleich zu Männern ist.

Neben klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren und geschlechtsspezifischen Unterschieden existieren aber auch psychosoziale Faktoren, für die eine Assoziation mit einer Endotheldysfunktion aufgezeigt werden konnte. So konnte beispielsweise bei Patienten mit depressiver Stimmungslage eine Einschränkung der endothelialen Funktion nachgewiesen werden [140]. Darüber hinaus existieren Studien, die auf eine eingeschränkte Endothelfunktion bei Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung hinweisen [141–145].

Es konnte gezeigt werden, dass eine endotheliale Dysfunktion einer Atherosklerose im präklinischen Stadium dem Nachweis struktureller Veränderungen vorausgeht [146, 147]. Eine endotheliale Dysfunktion ist insgesamt mit einem erhöhten Risiko für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse assoziiert [104, 148]. Unter anderem stellte sie sich als guter prädiktiver Faktor für das Auftreten eines erneuten akuten Koronarsyndroms (ACS) bei Patienten mit NSTEMI (Nicht-ST-Hebungsinfarkt) ACS [149], ebenso wie für Patienten mit Herzinsuffizienz und zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse [150], heraus.

In einer Studie von *Gokce et al.* konnte nachgewiesen werden, dass eine präoperativ evaluierte niedrige FMD bei gefäßchirurgischen Patienten mit einem erhöhten Risiko für ein postoperatives kardiales Ereignis assoziiert ist [151].

Eine koronare Endotheldysfunktion scheint bei der Entwicklung einer nach Herztransplantation auftretenden Transplantatvaskulopathie eine wesentliche Rolle zu spielen und stellt ein erhöhtes postoperatives Risiko sowohl für ein Transplantatversagen als auch das Auftreten eines plötzlichen Herztodes dar [152, 153].

Auch bei Patienten, die eine tiefe Beinvenenthrombose (TVT) erlitten, konnte in einer retrospektiven Studie eine endotheliale Dysfunktion nachgewiesen werden [135]. Dies gibt Hinweise darauf, dass insgesamt ein systemischer Prozess stattfindet, der nicht allein auf arterielle Gefäße begrenzt ist. Diese systemische Komponente wird auch daran deutlich, dass die periphere Endothelfunktion mit der invasiv gemessenen koronaren Endothelfunktion korreliert [103, 154].

Eine endotheliale Dysfunktion stellt allerdings keinen unveränderlichen Zustand dar, sondern birgt das Potential einer gewissen Reversibilität. So konnten bereits verschiedene Studien eine Verbesserung der Endothelfunktion durch medikamentöse Intervention, beispielsweise durch eine cholesterinsenkende Therapie [155, 156] oder durch eine Medikation mit ACE-Inhibitoren [157], nachweisen.

1.3 Hintergrund der Studie

1.3.1 Systemische Sklerose und FMD (Flow-Mediated Dilatation) der A. brachialis

Die vorliegende Studie ist nicht die erste, welche die Endothelfunktion mittels FMD der A. brachialis bei Patienten mit SSc untersucht. Viele der vorausgegangenen Arbeiten gingen der Frage nach, ob bezüglich der endothelialen Funktion Unterschiede zwischen SSc-Patienten und gesunden Probanden bestehen. Darüber hinaus wurden weitere Aspekte, beispielsweise die medikamentöse Beeinflussbarkeit der Endothelfunktion oder Assoziationen dieser zu laborchemischen Markern, untersucht. Die wichtigsten Resultate dieser Arbeiten sollen hier vorgestellt werden.

Insgesamt konnten durch Literaturrecherche 16 Studien ermittelt werden, welche die FMD der A. brachialis bei Patienten mit SSc sonografisch evaluierten. Die Ergebnisse der Endothelfunktionsmessungen, die bei 14 der 16 durchgeführten Studien einen Vergleich von SSc- und gesunden Kontrollpatienten ermöglichten, sind aus der Tabelle 2 abzulesen.

Dabei konnte bei der Mehrheit dieser Arbeiten nachgewiesen werden, dass bei Patienten mit SSc eine Störung der endothelialen Funktion vorliegt [158–169]. Lediglich zwei Studien gaben an, dass sie bezüglich der FMD keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen feststellen konnten [56, 170].

Zehn der 16 Studien untersuchten außerdem die endothelunabhängige, Nitroglycerin-medierte Vasodilatation (NMD). Der Vergleich der Ergebnisse von Erkrankten mit denen gesunder Probanden führte zu widersprüchlichen Aussagen: Sechs Arbeiten konnten bezüglich der NMD keine signifikanten Unterschiede feststellen [56, 161–163, 165, 170], vier Studien hingegen fanden bei Patienten mit SSc eine Einschränkung der endothelunabhängigen Vasodilatation [158–160, 166].

Bei den fünf Publikationen, welche die Endothelfunktion darüber hinaus für lSSc und dSSc getrennt beurteilten, ließen sich keine Unterschiede der FMD-Werte nachweisen [162, 167, 169, 170, 172].

Eine weitere Fragestellung, der relativ häufig nachgegangen wurde, war, ob Alter und FMD bei SSc-Patienten miteinander assoziiert sind. Während *Rossi et al.* [166] hier einen deutlichen Zusammenhang beschrieben, konnte dieser von drei weiteren Studien nicht bestätigt werden [56, 162, 164].

Sechs Studien untersuchten ferner, ob sich Assoziationen aus Erkrankungsdauer und Endothelfunktion bei Patienten mit SSc ableiten ließen. Dabei kamen fünf Studien zu dem Schluss, dass diesbezüglich keine signifikanten Aussagen gemacht werden können [56, 160, 162, 164, 168], während *Takahashi et al.* hier einen signifikanten Zusammenhang für die Subgruppe lcSSc beschrieben [169].

Es ist, wie bereits erwähnt, bekannt, dass die endotheliale Funktion medikamentös beeinflussbar ist und gegebenenfalls therapeutisch verbessert werden kann (Abschnitt 1.2.3). Einige der hier genannten Arbeiten untersuchten auch bei ihrer SSc-Kohorte die Effekte medikamentöser Interventionen. So ließ sich beispielsweise eine deutliche Verbesserung der FMD sowohl durch den Endothelin-Rezeptor-Antagonisten Bosentan [163] als auch durch den Phosphodiesterase-5 (PDE-5) -Inhibitor Tadalafil [171] bei SSc-Patienten nachweisen. Ebenso wurden bei weiblichen SSc-Patienten positive Effekte durch die Einnahme synthetischer Östrogene festgestellt [158, 159], hingegen schien Ascorbinsäure keinen Einfluss auf die Endothelfunktion zu haben [160].

Tabelle 2: Literaturübersicht: FMD der A. brachialis bei Patienten mit SSc

Autor, Jahr	FMD% (Mittelwert \pm SD)				p-Werte
	Patienten mit SSc	N	gesunde Kontrollen	N	
Lekakis et al, 1998[158]	3.6 \pm 7.0	12	11.9 \pm 4.6	12	0.003
Lekakis et al, 1998[159]	2.1 \pm 1.6	9	8.2 \pm 3.2	10	<0.001
Mavrikakis et al, 2003[160]	1.6 \pm 2.2	11	8.2 \pm 3.2	10	<0.001
D'Andrea et al, 2007[161]	4.8 \pm 2.2	33	7.8 \pm 4.3	30	<0.001
Szücs et al, 2007[162]	4.82 \pm 3.76	29	8.86 \pm 3.56	29	<0.001
Bartoli et al, 2007[164]	3.41 \pm 4.56	35	7.66 \pm 4.24	20	<0.037
Sfikakis et al, 2007[163]	3.1 \pm 1.3 / 2.4 \pm 1.7	24	8.2 \pm 2.7	52	<0.0001
Shenoy et al, 2010[171]	7.27	24	entfällt	0	entfällt
Rossi et al, 2010[166]	10.3 \pm 8.6	14	26.6 \pm 7.4	12	<0.001
Takahashi et al, 2013[169]	6.1 \pm 3.5	33	7.7 \pm 2.0	12	<0.05

Autor, Jahr	FMD% (Median [25.-75.Perzentil])				p-Werte
	Patienten mit SSc	N	gesunde Kontrollen	N	
Andersen et al, 2002[56]	4.63 [0.71- 7.58]	24	4.55 [2.23- 6.82]	24	0.977
Roustit et al, 2008[170]	13.6	42	11.4	33	NS
Cypiene et al, 2008[165]	3.7 [2.1- 8.6]	17	9.2 [6.8- 11.0]	34	0.001
Rollando et al, 2010[167]	8.0 [3.0- 9.0]	43	15.0 [12.0- 16.0]	27	<0.0001
Mok et al, 2010[168]	4.8	52	7.6	52	<0.001
Rosato et al, 2013[172]	8 [3.2-15]	23	entfällt	0	entfällt

FMD% bei Patienten mit SSc (Mittelwert \pm SD oder Median [25.-75.Perzentil]). Sofern durchgeführt Vergleich der FMD% Werte von Patienten mit SSc und gesunden Kontrollen unter Angabe des p-Wertes. SSc: systemische Sklerose; FMD: flussmedierte Vasodilatation; N: Anzahl der Patienten; SD: Standardabweichung; NS: nicht signifikant.

Die endotheliale Funktion von Patienten mit SSc wurde außerdem zusammen mit weiteren Parametern, die im Rahmen des vaskulären Assessments erhoben wurden, evaluiert. Darunter gab es zwei Studien, die von einem signifikanten Zusammenhang zwischen FMD und Befunden der Nagel-Kapillarmikroskopie ausgingen [167, 172], welcher aber von einer dritten Studie nicht bestätigt werden konnte [164].

Zwei weitere Arbeiten bestimmten in ihren SSc-Kohorten neben der FMD auch die Intima-Media-Dicke der A.carotis (cIMT, carotid intima media thickness), deren Zunahme allgemein als Marker einer subklinischen Atherosklerose betrachtet wird. Signifikant erhöhte cIMT-Werte bei SSc wurden in der Studie von *Bartoli et al.* nachgewiesen, nicht jedoch bei *Szücs et al.*. Beide Studien konnten keine Korrelation zwischen FMD und cIMT in ihren SSc-Gruppen feststellen [162, 164].

Außerdem konnte gezeigt werden, dass FMD und NMD signifikant mit dem Herzzeitvolumen assoziiert sind und die FMD mit dem peripher-arteriellen Gefäßwiderstand korreliert [166]. Eine weitere Studie stellte eine signifikante Assoziation von Endothelfunktion, CFR und Parametern der regionalen linksventrikulären Funktion (evaluiert mittels Strain

Rate Imaging) fest [161]. Pathologisch veränderte Werte für die postokklusive reaktive Hyperämie (PORH) bei SSc konnten durch *Roustit et al.* gezeigt werden, wobei eine Korrelation zwischen PORH und FMD, die bei der gesunden Kontrollgruppe vorlag, in der Gruppe SSc nicht mehr nachweisbar war [170].

In einer aktuellen Studie von *Rosato et al.* wurde interessanterweise beobachtet, dass bei Patienten mit SSc ein Zusammenhang zwischen erektiler Dysfunktion, digital mikrovaskulärer Störung und endothelialer Dysfunktion besteht [172].

Vereinzelt wurden durch die hier vorgestellten Arbeiten auch mögliche Zusammenhänge zwischen Endothelfunktion und laborchemischen Parametern untersucht. Hier zeigte sich in einer schwedischen Studie eine inverse Korrelation sowohl zwischen FMD als auch NMD und löslichem E-Selektin sowie zwischen NMD und erhöhten Spiegeln für Plasma-Nitrat und VCAM-1 [56]. Eine zweite Arbeit fand in den Seren von Patienten mit SSc signifikant erniedrigte Level für CD133+ KDR+ EPCs. Diese korrelierten mit einer beeinträchtigten FMD bei Patienten, die keine weiteren kardiovaskulären Risikofaktoren aufwiesen, weshalb die These einer potentiellen Rolle dieser Zellen in der Pathogenese der endothelialen Dysfunktion für SSc-Patienten postuliert wurde [168].

Zusammenhänge zwischen Endothelfunktion, Erkrankungsmanifestationen, Standardlaborparametern oder Antikörperkonzentrationen bei Patienten mit SSc wurden bisher lediglich vereinzelt untersucht. Sowohl *Bartoli et al.* [164] als auch *Szücs et al.* [162] konnten keine Assoziation zwischen FMD und dem Vorhandensein von ACA oder anti-Scl70-AK feststellen. In beiden Arbeiten zeigte sich darüber hinaus keine Abhängigkeit zwischen dem Vorliegen digitaler Ulzerationen und der Endothelfunktion, wohingegen eine dritte Studie eine signifikant erhöhte Prävalenz digitaler Ulzerationen bei Patienten mit lcSSc und reduzierter FMD angab [169].

Ein möglicher Zusammenhang zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren und FMD bei SSc-Patienten, der bisher nur von einer Arbeitsgruppe untersucht wurde, wurde bisher nicht beobachtet [164].

Drei Arbeiten evaluierten zusätzlich zur FMD die Hautsklerose anhand des Rodnan Skin Scores, wobei hier keine signifikante Assoziation beider Parameter nachgewiesen werden konnte [56, 166, 169].

Die Bedeutung von Standardlaborparametern im Rahmen der Endothelfunktionsmessungen bei SSc wurden bisher unterschiedlich gewertet. *Rossi et al.* beschrieben eine signifikante Relation sowohl zwischen Triglycerid-Level als auch Kreatinin-Clearance und endothelialer Funktion [166]. Diese Erkenntnis wurde durch zwei weitere Studien, die für sämtliche Lipid- als auch Entzündungsparameter wie CRP (C-reaktives Protein) und BSG (Blutsenkungsgeschwindigkeit) keine signifikante Assoziation zur Endothelfunktion nachweisen konnten, nicht geteilt [56, 165].

1.3.2 Vaskuläre Autoimmunantikörper bei systemischer Sklerose

Ein pathologisches Charakteristikum der SSc ist die Vaskulopathie, welche in Form verschiedener Krankheitsmanifestationen, beispielsweise einer PAH, einer SRC oder in Form akraler Durchblutungsstörungen in Erscheinung treten kann.

Die Arbeitsgruppe um *Riemekasten et al.* hat das Vorkommen funktioneller Autoimmunantikörper bei Patienten mit SSc untersucht [38]. Von Interesse waren hierbei AK gegen den Angiotensin II Typ 1 Rezeptor (AT₁R), den Endothelin-1 TypA Rezeptor (ET_AR) und den Protease-aktivierten Rezeptor 1 (PAR1). Es zeigte sich, dass die Titer der anti-AT₁R- und

anti-ET_AR-AK bei SSc-Patienten im Vergleich zu Patienten, die an einer anderen rheumatischen Erkrankung litten oder auch gegenüber gesunden Kontrollen, signifikant erhöht waren. Höhere Titer von anti-AT₁R- und anti-ET_AR-AK gingen dabei nicht nur mit schwereren Erkrankungsmanifestationen wie beispielsweise digitalen Ulzerationen, dem Vorhandensein einer Lungenfibrose oder auch einer PAH einher, sondern waren darüber hinaus auch mit einer erhöhten Mortalität bei den SSc-Patienten assoziiert.

Daneben wird den aktivierend wirkenden AK gegen AT₁R seit einigen Jahren eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Präeklampsie und insbesondere der Entwicklung der Präeklampsie-assoziierten Hypertonie zugeschrieben [173, 174]. *Dragun et al.* konnten außerdem eine Verbindung zwischen dem Vorhandensein von anti-AT₁R-AK und einer Transplantatabstoßung bei Patienten nach Nierentransplantation beobachten [175]. Funktionelle AK, welche gegen den ET_AR gerichtet sind, konnten außerdem bei Patienten mit idiopathischer PAH nachgewiesen werden [176]. Die pathogenetische Bedeutung und klinische Evaluation von anti-PAR-1-AK ist gegenwärtig Bestandteil noch laufender Forschungsarbeiten der AG Riemekasten, Charité Unversitätsmedizin Berlin.

1.4 Ziele der Studie

Die bisher durchgeführten Studien, die die Endothelfunktion bei Patienten mit SSc untersuchten, verfügen über zum Teil sehr geringe Fallzahlen. Aufgrund der Heterogenität der Erkrankung bestand ein Ziel unserer Studie darin, die Endothelfunktion an einer möglichst großen Kohorte von SSc-Patienten zu evaluieren.

Außerdem sollte untersucht werden, ob die Ergebnisse der Endothelfunktionsmessung mittels Sonografie der A. brachialis Assoziationen mit anderen klinischen Manifestationen und damit Hinweise für die Krankheitsschwere ermöglicht.

Im Einzelnen sollten folgende Fragestellungen bearbeitet werden:

1. Bestehen bezüglich der Endothelfunktion und weiterer (u.a. klinischer, laborchemischer) Parameter Unterschiede zwischen Patienten mit lSSc und Patienten mit dSSc?
2. Ist eine endotheliale Dysfunktion mit anderen Manifestationen einer Vaskulopathie, wie beispielsweise einer PAH, einer SRC oder in der Vergangenheit aufgetretenen digitalen Ulzerationen, assoziiert?
3. In welchem Ausmaß besteht ein Zusammenhang zwischen der Endothelfunktion und verschiedenen Biomarkern (anti-AT₁R-, anti-ET_AR- und PAR1-AK) bei Patienten mit SSc?
4. Ist die Endothelfunktion mit der Erkrankungsaktivität assoziiert?
5. Inwiefern ist eine Charakterisierung von Patienten mit „guter“ im Vergleich zu Patienten mit „schechter“ Endothelfunktion möglich?

Kapitel 2

Material und Methoden

An der Charité Universitätsmedizin Berlin werden durch das „Zentrum für Sklerodermie“ eine große Anzahl von Patienten, die an der seltenen systemischen Sklerose erkrankt sind, behandelt. Dadurch war es möglich, die Messung der Endothelfunktion einmalig an einer großen Studienkohorte von SSc-Patienten durchzuführen.

2.1 Studienaufbau

An einem einmaligen Termin wurde am Charité Centrum 11 (Campus Mitte, Charité Universitätsmedizin Berlin) die Messung der Endothelfunktion mittels FMD der A. brachialis bei Patienten mit SSc durchgeführt. Im Rahmen des Assessments der Studienkohorte erfolgte die standardisierte Erfassung klinischer Charakteristika in Anlehnung an den Erhebungsbogen des Deutschen Netzwerkes für Systemische Sklerose (DNSS), vorgestellt von *Hunzelmann et al.*[75].

Zusätzlich wurde eine venöse Blutentnahme für die Bestimmung von Routinelaborparametern und Autoantikörperkonzentrationen durchgeführt. Organspezifische Untersuchungsergebnisse wurden den im Rahmen der regelmäßig durchgeführten Staginguntersuchungen, insbesondere der bodyplethysmographischen Lungenfunktionsmessung sowie der transthorakalen Echokardiographie (TTE), entnommen.

2.1.1 Rekrutierung der Studienteilnehmer

Die Zusammenstellung eines Studienkollektivs fand im Zeitraum vom 01.02.2011 bis 20.10.2011 statt. Es wurden Patienten mit SSc rekrutiert, die anhand der Kriterien von *LeRoy et al.* klassifiziert und den Gruppen lSSc und dSSc zugeordnet werden konnten [4]. Die Rekrutierung erfolgte durch persönliche Ansprache und wurde bei Patienten durchgeführt, welche sich in stationärer, teilstationärer oder ambulanter Betreuung (ambulante Sprechstunde oder Studienabteilung) in der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie Charité Centrum 12, Campus Mitte, Charité Universitätsmedizin Berlin, befanden.

Die Teilnehmer mussten mindestens 18 Jahre alt sein und sich in einem entsprechend guten Gesundheitszustand als Voraussetzung für die Studienteilnahme befinden. Die Medikation musste bei allen Patienten seit mindestens einem Monat stabil sein. Zwischen Studienteilnahme und einer Infusionstherapie mit Cyclophosphamid (Endoxan®) oder einem Prostatykin-Analogen (z.B. Ilomedin®) musste mindestens ein Monat vergangen sein.

Ausschlusskriterien

Bei Vorliegen von mindestens einem der nachfolgend aufgeführten Kriterien konnte keine Studienteilnahme erfolgen:

- arterielle Embolie, koronar- oder zerebrovaskuläres Ereignis innerhalb der letzten drei Monate
- Operation oder Verfahren zur Revaskularisierung innerhalb der letzten drei Monate
- Alkohol- oder Drogenabusus
- Schwangerschaft
- aktive akrale Ulzerationen
- aktive Tumorerkrankung
- entzündliche Erkrankung (nicht im Rahmen der Grunderkrankung)
- intravenöse Therapie mit Cyclophosphamid oder Prostazyklin-Analogon innerhalb des letzten Monats

Aufgrund ethischer Bedenken in Hinblick auf die Durchführung der Endothelfunktionsmessung, insbesondere die transiente akrale Durchblutungsunterbrechung durch eine Blutdruckmanschette, wurden Patienten mit aktiven akralen Ulzerationen von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Die Medikation der Studienteilnehmer wurde aus ethischen Gründen beibehalten.

Studieneinschluss

Initial konnten 95 Patienten identifiziert werden, welche die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten. Mit elf Patienten konnte aufgrund der fehlenden Wohnortsnähe keine Studienteilnahme vereinbart werden. Bei fünf Patienten lag zum Zeitpunkt des vorab vereinbarten Studientermins eine schwerwiegende Progredienz ihrer Grunderkrankung vor, sodass sie ihre Bereitschaft zur Studienteilnahme sowohl für den vereinbarten als auch für einen möglichen neuen Termin zurückzogen. Bei weiteren vier Patienten kam es aufgrund einer akut aufgetretenen, nicht SSc-assoziierten Erkrankung zum vorzeitigen Studienausschluss. Aufgrund der ungenügenden Auswertbarkeit der Endothelfunktionsmessung kam es bei einer Patientin zum nachfolgenden Studienausschluss.

Insgesamt konnten 74 Patienten für das Studienprojekt rekrutiert werden. Dabei wurden 43 Patienten (58.1%) aus dem vollstationären und acht Patienten (10.8%) aus dem teilstationären Bereich, weitere 15 Patienten (20.3%) durch die ambulante Sprechstunde und nochmals acht Patienten (10.8%) über die Studienabteilung rekrutiert.

Bei den insgesamt 51 Patienten aus dem voll- beziehungsweise teilstationären Bereich betrug der Anteil der Patienten mit ISc 39.2% (N=20) und der Anteil der Patienten mit dSSc 60.8% (N=31). Ambulant, also über die Sprechstunde oder durch die Studienabteilung, konnten insgesamt 23 Patienten rekrutiert werden. Davon hatten 82.6% der Patienten eine limitierte SSc (N=19) eine nur 17.4% eine dSSc (N=4).

Ethikvotum

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten erhielten vor der Studienteilnahme eine schriftliche Information über Inhalt sowie Ablauf des Forschungsprojektes und mussten vor Beginn der Datenerhebung nach einer Mindestbedenkzeit von mindestens 24 Stunden ihre schriftliche Einwilligung für die Studienteilnahme vorlegen. Das Studienprojekt wurde durch die Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin bewilligt, Ethikvotumsnummer: EA1/081/11

2.2 Charakterisierung der Studienkohorte

2.2.1 Patienten mit ISSc (limitierte systemische Sklerose) und dSSc (diffuse systemische Sklerose)

In dieser Studie wurden die Patienten anhand der Kriterien von *LeRoy et al.* wie unter 1.1.2 beschrieben klassifiziert und der entsprechenden Gruppe zugeteilt: Patienten mit ISSc und Patienten mit dSSc [4].

2.2.2 Demografische und klinische Charakteristika

In Tabelle 3 sind die basalen klinischen Charakteristika aufgeführt, die von jedem der teilnehmenden Patienten zu Beginn der Studie erfasst wurden. Für nicht-metrisch skalierte Daten wurde lediglich erfasst, ob eine Merkmalsausprägung vorlag oder nicht. Des Weiteren erfolgte die Erfassung der aktuellen Medikation eines jeden Patienten. In der Auswertung wurden Calciumkanalblocker, β -Rezeptorenblocker, Endothelin-Rezeptor-Antagonisten, Nitratre und Phosphodiesterase-5-Hemmer mitunter als „vasoaktive Medikation“, eine Medikation mit Hydroxychloroquin, Azathioprin, Leflunomid, Calcineurin-Inhibitoren oder Mycophenolat-Mofetil als „sonstige Immunsuppressiva“ zusammengefasst.

Tabelle 3: Erhebung klinischer Charakteristika

Biometrische Daten	Alter, Geschlecht, Körpergröße Körpergewicht, Body Mass Index (BMI), Herzfrequenz, Blutdruck (BD)
Kardiovaskuläre Risikofaktoren	Diabetes mellitus (nach WHO-Definition), Adipositas ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$), arterielle Hypertonie ($\text{BD} \geq 140$ systolisch/90 diastolisch) oder antihypertensive Medikation, Hypercholesterinämie (Cholesterin gesamt $> 200 \text{ mg/dl}$), aktive Raucher

2.2.3 Erkrankungsmanifestationen

Die Erfassung der Erkrankungsmanifestationen erfolgte in Anlehnung an den standardisierten Assessmentbogen des DNSS [75]. Die Daten wurden sowohl durch das persönliche Anamnesegespräch als auch durch Aktenrecherche gewonnen und mittels zweistelliger Patientennummern pseudonymisiert.

Erkrankungsdauer

Das klinische Auftreten des ersten nicht-Raynaud-Symptoms wurde als Erkrankungsbeginn der SSc definiert und der Berechnung der Erkrankungsdauer zugrunde gelegt. Zusätzlich wird die Erkrankungsdauer seit Beginn des Raynaud-Phänomens angegeben.

Raynaud-Phänomen

In der durchgeführten Studie wurde das Vorliegen eines Raynaud-Phänomens anhand anamnestischer Angaben der Patienten beurteilt.

Dermale Beteiligung

Die Beurteilung der Hautsklerose erfolgte anhand des modifizierten Rodnan Skin Scores (mRSS) [177]. Hierbei werden bei jedem Patienten 17 Hautareale palpiert und mit Hilfe einer Punkteskala eingestuft:

- 0 = normale Hautdicke
- 1 = schwache Hautverdickung
- 2 = mäßige Hautverdickung
- 3 = schwerwiegende Hautverdickung

Zu den 17 Hautarealen zählen: das Gesicht, das Dekolleté beziehungsweise die ventrale Thoraxwand, das Abdomen, beidseits die Ober- und Unterarme, Hände und Finger sowie beidseits die Ober- und Unterschenkel sowie die Füße. Die Punktwerte der einzelnen Areale werden zu einem Summenscore addiert, wobei der niedrigste Wert 0 und der höchstmögliche Gesamtwert 51 Punkte beträgt. Das Vorliegen einer Hautsklerose unabhängig von ihrem Ausmaß wurde als positive Merkmalsausprägung im Sinne einer Hautbeteiligung gewertet.

Digitale Ulzerationen

Das Vorhandensein von digitalen Ulzerationen in der Vergangenheit wurde anhand von Anamnese und Aktenrecherche ermittelt. Es handelt sich hierbei um Substanzdefekte der Endphalangen von Fingern oder Zehen, welche mindestens bis an die Dermis heranreichen und bis zum Verlust des Phalangen führen können.

Pulmonale Beteiligung

Eine Organbeteiligung im Sinne einer Lungenfibrose galt als nachgewiesen, wenn fibrotische Lungengerüstveränderungen mindestens einmalig in der Bildgebung (Thoraxröntgen und/oder high-resolution CT (HR-CT)) diagnostiziert und zusätzlich eine FVC (forcierte Vitalkapazität) $<80\%$ in der Lungenfunktionsmessung ermittelt wurde.

Von einer PAH wurde ausgegangen, wenn mindestens einmalig mittels Rechtsherzkatheteruntersuchung in Ruhe ein mPAP >25 mmHg (mittlerer pulmonalarterieller Druck) bei gleichzeitigem PCWP <15 mmHg (pulmonary capillary wedge pressure, Wedge Druck) gemessen und/oder bei der aktuell durchgeführten TTE ein sPAP von >38 mmHg (systolischer pulmonalarterieller Druck) festgestellt wurde.

Renale Beteiligung

Eine Proteinurie im Urin-Teststreifen oder eine glomeruläre Filtrationsrate (GFR) <60 ml/min wurden, sofern kein arterieller Hypertonus oder Diabetes mellitus vorlag, ebenso als renale Beteiligung im Rahmen der SSc gewertet wie eine aktuell bestehende oder in der Vergangenheit diagnostizierte SRC. Die Hauptkriterien der SRC sind das neue Auftreten einer schweren arteriellen Hypertonie zusammen mit einem rapiden Anstieg des Serumkreatinins beziehungsweise einer akuten Verschlechterung der Nierenfunktion. Ein zusätzliches Kriterium, das die Diagnose unterstützt, ist eine mikroangiopathische hämolytische Anämie [78, 79].

Kardiale Beteiligung

Von einer kardialen Beteiligung im Rahmen der Grunderkrankung wurde beim Vorliegen von mindestens 2 der nachfolgenden Kriterien ausgegangen: Peri-/Myokarditis in der Anamnese (soweit keine andere Ursache bekannt), in der Echokardiographie Zeichen der diastolischen Dysfunktion, eine LVEF (linksventrikuläre Ejektionsfraktion) $<55\%$ oder ein Perikarderguss, Irregularitäten im EKG (Elektrokardiogramm) im Sinne eines AV-Blockes, eines Rechts-/ Linksschenkelblocks (RSB, LSB), ventrikulärer Extrasystolen (VES), supraventrikulärer Extrasystolen (SVES) oder Vorhofflimmern (VF) beziehungsweise Zustand nach Vorhofablation.

Weitere Krankheitsmanifestationen

Eine mit der SSc assoziierte gastrointestinale (GI-) Beteiligung galt als erwiesen bei in der Vergangenheit erfolgtem apparativen Nachweis einer Ösophagusmotilitätsstörung (mittels Szintigraphie, Manometrie oder Kontrastmittel-Breischluck Röntgen), dem Vorhandensein einer klinischen Dysphagie oder einer anderweitig symptomatischen gastrointestinalen Beteiligung. Diese lag vor, wenn die Patienten mindestens zwei der folgenden Störungen angaben: Refluxsymptomatik, Völlegefühl, rezidivierendes Erbrechen, Diarrhoe, Blähungen oder Obstipationsbeschwerden.

Die Kriterien für eine Beteiligung des Bewegungsapparates im Rahmen der SSc galten als erfüllt, wenn mindestens zwei der folgenden Kriterien zutrafen: klinische Synovitis, Gelenkkontrakturen, Sehnenreiben, Muskelschwäche und/oder -schmerzen, Muskelatrophie oder eine im Serum dreifach über der Norm erhöhte Kreatinkinase (CK).

Von einer Beteiligung des Nervensystems wurde ausgegangen, wenn zuvor die Diagnosekriterien einer Polyneuropathie, einer Trigeminalneuralgie oder eines Karpaltunnelsyndroms erfüllt wurden und diese nicht durch andere Ursachen erklärbar waren.

2.2.4 Erkrankungsaktivität

Die Einschätzung der Erkrankungsaktivität wurde bei jedem Studienteilnehmer anhand des von der EUSTAR (EULAR Scleroderma Trials And Research Group) verwendeten und von *Valentini et al.* entwickelten Aktivitätsscores für Patienten mit SSc vorgenommen [178, 179]. Der Aktivitätsscore (vgl. Tabelle 4) setzt sich aus 10 verschiedenen Variablen zusammen, welche unterschiedlich gewichtet werden. Subjektive Angaben der Patienten bezüglich der Verschlechterung von Durchblutungsstörungen, Haut- und kardiopulmonalen Symptomen werden am höchsten mit jeweils zwei Punkten bewertet. Die Summe aller Punkte ergibt den Gesamtscore, welcher maximal 10 Punkte beträgt. Eine Erkrankung wird dann als „aktiv“ interpretiert, wenn der Summenscore ≥ 3 ist. In der vorliegenden Arbeit wurde der Aktivitätsscore aufgrund des initialen Studienausschlusses von Patienten mit aktiven digitalen Ulzerationen lediglich als metrisches Instrument angewandt.

Tabelle 4: EUSTAR Aktivitätsscore für Patienten mit SSc anhand der Kriterien von *Valentini et al.* [178, 179]

Parameter	Score
modifizierter Rodnan Skin Score (mRSS) >14	1.0
Skleroderma	0.5
Verschlechterung der Hautsymptome im letzten Monat*	2.0
Digitale Nekrosen	0.5
Verschlechterung der Durchblutungsmanifestationen im letzten Monat*	0.5
Arthritis der peripheren Gelenke	0.5
DLCO < 80% des vorhergesagten Wertes	0.5
Verschlechterung der kardiopulmonalen Symptome im letzten Monat*	2.0
BSG >30/ h	1.5
Hypokomplementämie (C3 oder C4 erniedrigt)	1.0
*gemäß Angaben durch Patient	

2.2.5 Mikro- und Makrovaskulopathie

Im Rahmen der Studie wurden Kriterien bezüglich des Vorliegens mikro- und makrovaskulopathischer Erkrankungsmanifestationen definiert.

Von dem Vorliegen einer Mikrovaskulopathie wurde ausgegangen, wenn mindestens eines der folgenden Merkmale zutraf: digitale Ulzerationen in der Anamnese, Diagnose einer PAH und/oder eine renale Beteiligung im Rahmen der Grunderkrankung analog zu den zuvor genannten Definitionskriterien.

Eine Makrovaskulopathie wurde dokumentiert, wenn mindestens eines der folgenden Charakteristika zu finden war: ein Myokardinfarkt und/oder ein Schlaganfall in der Anamnese, das Vorhandensein einer koronaren Herzkrankheit und/oder einer sonstigen symptomatischen Atherosklerose beziehungsweise Stenose eines großen Gefäßes. Letzteres beinhaltet unter anderem das Vorliegen eines Subclavian Steal-Syndroms, einer pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit) oder einer Carotisstenose.

2.3 Endothelfunktionsmessung mittels Sonografie der A. brachialis: FMD und Nitroglycerin-medierte Vasodilatation (NMD)

2.3.1 Voraussetzungen und Ablauf

Die Messung der Endothelfunktion erfolgte mittels Sonografie der A. brachialis und Bestimmung der FMD sowie NMD anhand etablierter Richtlinien von *Corretti et al.* [180]. Der Untersuchungstermin fand einmalig morgens in der Funktionsdiagnostik der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie und Angiologie (Charité Centrum 11, Campus Mitte, Charité Universitätsmedizin Berlin) statt. Die Studienteilnehmer mussten nüchtern erscheinen und eine vorherige starke körperliche Anstrengung ausgeschlossen sein. Die Messung der FMD und NMD erfolgte am liegenden Patienten nach einer Ruhezeit von mindestens 15 Minuten unter standardisierten Raumbedingungen (abgedunkelt, 21-24°C, ruhige Umgebung). Apparativ kamen ein hochauflösender Gefäßultraschall (Sonoline Antares; Siemens, Deutschland) sowie ein 13 MHz Linearschallkopf zur Anwendung. Das Gerät verfügt über die in den Leitlinien geforderten Eigenschaften: eine Software für Gefäßultraschall mit einer 2D Bildgebung, Farb- und Spektraldoppler sowie ein internes EKG. Mittels internem Aufnahmegerät erfolgte die Aufzeichnung der Ultraschalldarstellungen mittels Videoclip als 5-Sekunden-Sequenzen. Die Ultraschallsequenzen einer Messung wurden auf einer CD gespeichert und zur Pseudonymisierung mit einem Zahlencode versehen. Die sonographischen Untersuchungen wurden im gesamten Studienverlauf durch ein und denselben Untersucher durchgeführt.

2.3.2 Messung der FMD

Mittels Sonografie wurde am liegenden Patienten mit ausgestrecktem und supiniertem Arm die rechte A. brachialis ca. 3-10 cm proximal der Fossa cubitalis im Längsschnitt aufgesucht.

Die Darstellung des Gefäßes erfolgte zunächst im Querschnitt und anschließend parallel zum Ultraschallkopf, bis an anteriorer und posteriorer Gefäßwand die Endothelschicht in identischer Breite erschien. Der Ultraschallkopf wurde in dieser Position durch eine für diese Untersuchung konstruierte Halteapparatur fixiert (Abbildungen 2 und 3).

Die Aufzeichnung des Ausgangsdiameters der A. brachialis zum Zeitpunkt Null (Baseline-FMD) erfolgte bei kontinuierlicher EKG-Registrierung als erste 5-Sekunden Videosequenz. Anschließend wurde für 5 Minuten die Stauung der Durchblutung am Unterarm mit Hilfe einer auf 250mmHg aufgepumpten Blutdruckmanschette am distalen Unterarm durchgeführt.

Nach dem Lösen der Manschette erfolgte im Abstand von 15 Sekunden über insgesamt vier Minuten die Aufzeichnung des Gefäßes als 5-Sekunden-Einheiten mittels Videoclip, um eine mögliche Gefäßerweiterung im Rahmen der zu erwartenden Hyperämie zu erfassen.

Während der gesamten Messung wurden kontinuierliche EKG- sowie regelmäßige Blutdruckmessungen (zweiminütiges Intervall, kontralateraler Oberarm) aufgezeichnet.

Die Messung der FMD erfolgte bei allen Studienteilnehmern (N=74).

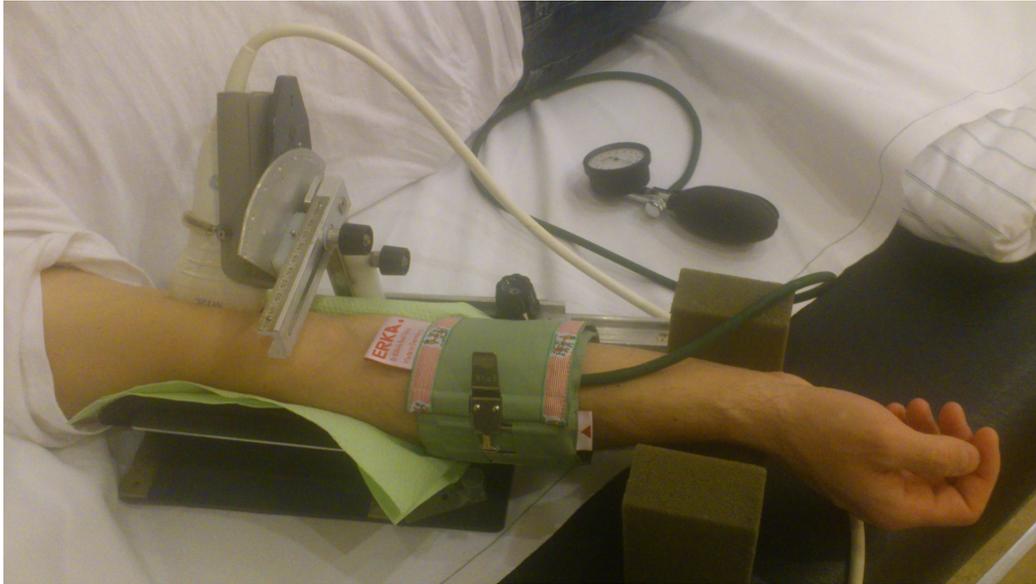


Abbildung 2: Versuchsaufbau zur FMD- und NMD-Messung
 Liegender Patient, rechter Arm in supinierter Position. Fixierung des Ultraschallkopfes über A. brachialis (3-4 cm proximal der Fossa cubitalis) in externer Halteapparatur. Blutstauungsmanchette zur Induktion einer transienten Ischämie am rechten Unterarm.

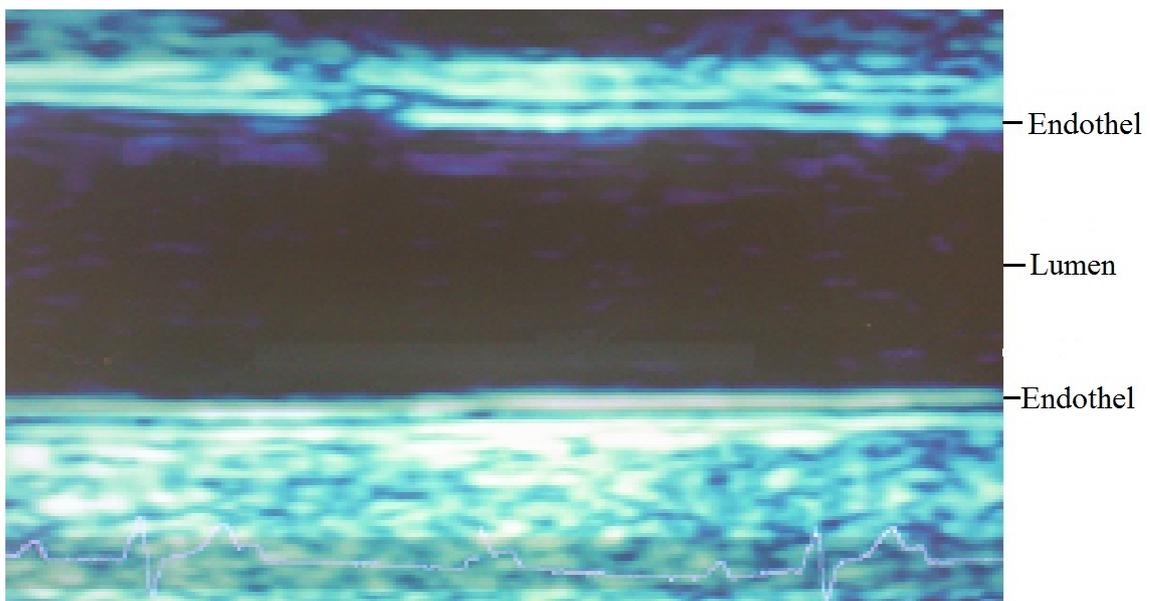


Abbildung 3: Sonografische Endotheldarstellung
 Längsschnitt der rechten A. brachialis, sonografische Darstellung des Endothels der anterioren und posterioren Gefäßwand. Simultan erfolgt die Aufzeichnung eines 3-Kanal EKGs.

2.3.3 Messung der NMD

Im Anschluss an die Messung der FMD sowie einer 15-minütigen Ruhepause im Liegen erfolgte die Messung der NMD.

Unter gleichen Rahmenbedingungen erfolgte zunächst die Aufzeichnung des Gefäßdiameters zum Zeitpunkt Null (Baseline- NMD) der rechten A. brachialis als 5-Sekunden Videosequenz. Bei gleicher Versuchsanordnung und ohne Stauung durch die Blutdruckmanschette erhielt der Studienteilnehmer einen Hub (0,4mg) Nitroglycerin-Spray sublingual. Anschlie-

ßend wurde im Abstand von jeweils 30 Sekunden für insgesamt sechs Minuten eine Aufzeichnung der A. brachialis in der gleichen Darstellung wie bei der FMD-Messung per Videoclip als 5-Sekunden Sequenzen durchgeführt. Während der gesamten Messung erfolgte wie zuvor eine kontinuierliche EKG- und regelmäßige Blutdruckaufzeichnung (zweiminütiges Intervall, kontralateraler Oberarm).

Da für die Durchführung der NMD-Messung eine einmalige sublinguale Applikation von 0.4mg Nitroglycerin notwendig war, musste bei Vorliegen von entsprechenden Kontraindikationen auf diese verzichtet werden: Sie entfiel bei bekannter Überempfindlichkeit gegenüber Nitroglycerin, einer Hypotonie mit systolischen Blutdruckwerten <100 mmHg oder bei gleichzeitiger Therapie mit Phosphodiesteraseinhibitoren.

Aufgrund von Kontraindikationen konnte die NMD lediglich bei 45 Patienten, 41 Frauen und vier Männern, bestimmt werden.

2.3.4 Auswertung der Ultraschallmessungen

Die einzelnen Videoclips der FMD- und NMD-Ultraschallsequenzen wurden jeweils auf einer CD gespeichert. Anschließend erfolgte die Analyse offline mit einer für die Endothelfunktionsmessung mittels Ultraschall spezialisierten Software (Tom Tec Imaging Systems, Unterschleißheim, Deutschland) durch eine zweite, zu den Studienobjekten verblindete Person.

Alle 5-Sekunden-Videsequenzen sowohl der FMD- als auch NMD-Messungen wurden einzeln abgespielt. Innerhalb jeder Sequenz wurde insgesamt sechsmal der Gefäßdurchmesser von der anterioren Endothelschicht zur posterioren Endothelschicht bestimmt. Diese Messungen erfolgten immer zeitgleich zum höchsten Ausschlag der R-Zacke des parallel registrierten EKGs. Der Mittelwert dieser sechs Messungen wurde als repräsentativer Durchmesser des Gefäßes für die untersuchte Zeitsequenz dokumentiert.

Für die FMD-Messung wurde nun der weiteste Gefäßdurchmesser innerhalb der ersten vier Minuten nach Lösen der Durchblutungsstauung ermittelt und dieser ins Verhältnis zum Ausgangswert (Baseline) des Gefäßdurchmessers gesetzt. Die maximale prozentuale Gefäßerweiterung spiegelt die endothelvermittelte flussabhängige Vasodilatation (FMD%) wider.

Die NMD% ist definiert als die maximale prozentuale Gefäßerweiterung im Vergleich zu ihrem Ausgangsdiameter (Baseline-NMD) nach externer NO-Applikation und spiegelt die endothelunabhängige Vasodilatation wider.

2.4 Routinediagnostik

Standardlaborparameter

Im Rahmen der Studie fand eine venöse Nüchtern-Blutentnahme zur Untersuchung von Standardlaborparametern und Autoantikörperkonzentrationen statt. Es erfolgte die Abnahme von ca. 5-10ml Blutserum für die Antikörpermessungen und ca. 20ml venösem Vollblut zur Bestimmung folgender Parameter: Blutbild, BSG, CRP, Kalium, Kreatinin (Berechnung der GFR durch Anwendung der MDRD-Formel), Cholesterin, high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), Triglyceride, Blutglukose, HbA1c, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Komplementfaktoren C3 und C4 sowie Thyroidea-stimulierendes Hormon (TSH).

Die Untersuchung der Blutproben erfolgte nach standardisierten Analysemethoden im Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie der Charité Universitätsmedizin Berlin. Die Urindiagnostik erfolgte mittels Teststreifen, anhand derer das Vorliegen einer möglichen Proteinurie evaluiert wurde.

Durchführung der Funktionsdiagnostik und radiologischen Bildgebung

Daten, die der Objektivierung einzelner Organbeteiligungen dienen, wurden den jährlich oder halbjährlich durchgeführten Staging-Untersuchungen entnommen. Dazu zählten eine Lungenfunktionsprüfung mittels Ganzkörperplethysmographie, eine TTE, eine Bildgebung der Lunge entsprechend der klinischen Indikationsstellung als Nativ-Röntgen oder HR-CT sowie ein aktuelles 12-Kanal-EKG.

Folgende Parameter wurden der Lungenfunktionsmessung entnommen und in Relation zum ermittelten „Soll-Wert“ in Prozent angegeben: forcierte Vitalkapazität (FVC), Einsekundenkapazität (FEV_1), totale Lungenkapazität (TLC), die Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid, Hämoglobin korrigiert (DLCOc), Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid pro Alveolarvolumen ($DLCO/VA$, = Krogh Factor (KCO)), Tiffeneau-Index (FEV_1/FVC).

Folgende Angaben der TTE wurden dokumentiert: sPAP (mmHg), LVEF (%), Vorhandensein eines Perikardergusses, Zeichen einer diastolischen Dysfunktion.

Die im Rahmen der Staginguntersuchungen durchgeführte Diagnostik wurde nach standardisierten Kriterien durch geschultes Fachpersonal in verschiedenen Zentren des Campus Mitte, Charité Universitätsmedizin Berlin, ausgeführt. Die bodyplethysmographische Lungenfunktionsmessung erfolgte im Bereich der Funktionsdiagnostik der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie und Angiologie (Charité Centrum 11), die TTE in der Medizinischen Poliklinik der Charité (Charité Centrum 12) oder ebenfalls in der Funktionsdiagnostik der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie und Angiologie (Charité Centrum 11). Die radiologische Diagnostik wurde am Institut für Radiologie (Charité Centrum 6) durchgeführt. Aufzeichnung und Befundung eines 12-Kanal EKGs erfolgte durch ärztliches Personal der involvierten rheumatologischen Abteilung.

In die Auswertungen wurden, sofern nicht anders genannt, Untersuchungsergebnisse einbezogen, die in einem Zeitraum von bis zu maximal sechs Monaten vor Studienteilnahme lagen.

2.5 Messung der anti-AT₁R-, anti-ET_AR- und anti-PAR-1-Autoantikörper

Für die Bestimmung der Antikörper gegen AT₁R, ET_AR und PAR-1 wurden jedem Patienten ca. 5-10ml Blutserum abgenommen. Die Messung der Antikörperkonzentrationen der anti-AT₁R und anti-ET_AR-Antikörper erfolgte mittels eigens hierfür entwickeltem Sandwich ELISA (CellTrend GmbH, Luckenwalde, Deutschland) wie von *Riemekasten et al.* [38] beschrieben und wurde durch qualifiziertes, studienfremdes Personal durchgeführt.

Ebenso wurde ein patentierter ELISA zur Bestimmung der anti-PAR-1-AK durch Celltrend entwickelt. Die Studienergebnisse zur Evaluation dieses Verfahrens wurden bisher noch nicht veröffentlicht.

2.6 Statistische Methoden

Die statistischen Auswertungen erfolgten mit der Software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Version 21, IBM), einzelne graphische Darstellungen wurden mit EXCEL (Version 2010, Microsoft Office) erstellt.

Darstellung und Definitionen

Bei der durchgeführten Studie handelt es sich um eine Querschnittsstudie einer definierten Studienkohorte. Es wurden sowohl qualitative als auch quantitative Daten erhoben. Die Daten wurden entsprechend ihrer Skalierung dargestellt und ausgewertet. Kategoriale Daten wurden als Anzahl und in Prozent, quantitative Daten als Median, 75. und 25. Perzentile angegeben. Bei unvollständiger Datenerhebung wurde die jeweilige Referenzpopulation angegeben oder der prozentuale Anteil fehlender Werte vermerkt.

Testverfahren

Die Daten der vorliegenden Studie sind nicht normalverteilt. In den Auswertungen kamen nichtparametrische Testverfahren zur Anwendung. Nominalskalierte Daten von unverbundenen Stichproben wurden mittels Kreuztabellen und Chi-Quadrat-Test (exakter Test nach Fisher) verglichen. Ein Vergleich metrischer Daten von unabhängigen Gruppen wurde durch den U-Test nach Mann und Whitney geprüft. Ein möglicher Zusammenhang zwischen ordinalskalierten oder metrischen Variablen wurde anhand des Rangkorrelationskoeffizienten Spearman-Rho evaluiert. Um den Einfluss von Covariaten zu prüfen wurden parameterfreie Varianzanalysen nach Brunner durchgeführt. Alle statistischen Tests wurden zweiseitig durchgeführt, ein p-Wert von <0.05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

2.7 Literaturrecherche

Die Literaturrecherche erfolgte im Wesentlichen online mit der Datenbank „PubMed“, welche durch das National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine entwickelt wurde und unter dem Link <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> abzurufen ist. Die Recherche begann am 01.02.2011 und wurde bis zum 31.05.2013 regelmäßig aktualisiert.

Suchbegriffe, die einzeln und in Kombination hierbei verwendet wurden, lauteten: „scleroderma, systemic“, „scleroderma, diffuse“, „flow-mediated dilation“, „FMD“, „endothelial function“, „brachial artery ultrasound“. Arbeiten, die nicht auf Englisch oder Deutsch verfasst waren oder von denen lediglich ein englischsprachiges Abstract vorlag, wurden in dieser Arbeit ebensowenig berücksichtigt wie Publikationen, die lediglich über eine sehr geringe Anzahl von Patienten berichteten (Case Report).

Darüber hinaus wurde die Referenzliteratur der Artikel sowie einschlägige Fachliteratur gesichtet und gegebenenfalls als Quellen für diese Arbeit genutzt.

Kapitel 3

Ergebnisse

3.1 Klinische Charakteristika

3.1.1 Baseline-Charakteristika

Für die vorliegende Studie konnten insgesamt 74 Patienten rekrutiert werden, welche das Studienprojekt erfolgreich abschlossen. Die Baseline-Charakteristika der Studienpopulation sind in der Tabelle 5 zusammengefasst.

Von den 74 Studienteilnehmern hatten 39 (52.7%) die limitierte und 35 (47.3 %) die diffuse Verlaufsform der SSc. Die Mehrheit der Patienten wurde aus dem stationären beziehungsweise teilstationären Bereich der Klinik rekrutiert (N=51). Hier war der Anteil der Patienten, welche an einer dSSc erkrankt waren, mit 60.8% deutlich höher als der Anteil an Patienten mit lSSc (39.2%). Patienten mit lSSc waren mit 61 (70-53) Jahren etwas älter als Patienten mit dSSc (55 [66-48] Jahre). Darüber hinaus hatten sie im Vergleich mit 7 (13-2) Jahren tendenziell eine längere Erkrankungsdauer als Patienten mit dSSc und einer Erkrankungsdauer von 4 (6-2) Jahren (Erkrankungsdauer seit erstem nicht-Raynaud-Phänomen).

Die Erkrankungsdauer seit erstem Auftreten des Raynaud-Phänomens (vgl. Abschnitt 3.1.4, Patienten mit Raynaud-Phänomen: N=72) war bei Patienten mit lSSc wesentlich länger (9 [15-5] Jahre) als bei Patienten mit dSSc (5 [9-3] Jahre; $p= 0.006$).

Auch die Zeitspanne zwischen Beginn des Raynaud-Phänomens und erstem nicht-Raynaud-Symptom war mit 2 (4-1) Jahren bei Patienten mit lSSc deutlich länger als bei Patienten mit dSSc (0 [1-0] Jahre, $p= 0.004$). Die basale Herzfrequenz bei Patienten mit diffuser Verlaufsform war mit 72 (78-68) Schlägen/min statistisch signifikant höher als bei Patienten mit lSSc, die eine Herzfrequenz von 64 (72-60) Schlägen/min hatten ($p= 0.002$). Sowohl BMI als auch systolischer und diastolischer Blutdruck waren in den Gruppen lSSc und dSSc nicht signifikant voneinander verschieden.

Der Anteil der Frauen in der Studienkohorte lag bei 85.1%, der der Männer bei 14.9%. Frauen waren mit 60 (71-53) Jahren älter als männliche Probanden mit 50 (54-48) Jahren ($p= 0.007$) und hatten im Vergleich einen niedrigeren diastolischen Blutdruck (68 [76-63] mmHg vs. 75 [82-69] mmHg, $p= 0.017$). Bezüglich Erkrankungsdauer, basaler Herzfrequenz, systolischem Blutdruck sowie Body-Mass-Index ergaben sich keine weiteren geschlechtsspezifischen Unterschiede.

Tabelle 5: Baseline-Charakteristika

	SSc gesamt (N=74)	ISSc (N=39)	dSSc (N=35)	p-Wert	Frauen (N=63)	Männer (N=11)	p-Wert
Alter, Jahre	59 (70-50)	61 (70-53)	55 (66-48)	0.062	60 (71-53)	50 (54-48)	0.007*
ED (seit 1.Nicht-Raynaud- Phänomen), Jahre	5 (10-2)	7 (13-2)	4 (6-2)	0.050	5 (11-3)	4 (5-2)	0.089
BMI, kg/m ²	24.1 (26.3-21.9)	24.0 (26.1-22.0)	24.4 (27.0-21.8)	0.537	24.0 (26.1-21.9)	24.9 (27.2-21.5)	0.784
HF, Schläge/min	72 (72-62)	64 (72-60)	72 (78-68)	0.002*	72 (72-64)	72 (76-60)	0.734
RR systolisch, mmHg	119 (131-109)	124 (134-110)	116 (130-107)	0.252	118 (132-87)	119 (131-105)	0.769
RR diastolisch, mmHg	69 (77-64)	68 (74-63)	70 (80-65)	0.319	68 (76-63)	75 (82-69)	0.017*

Darstellung der Daten als Median (75.-25. Perzentile), Vergleich von ISSc und dSSc bzw. von Frauen und Männern unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. SSc: systemische Sklerose; dSSc: diffuse systemische Sklerose; ISSc: limitierte systemische Sklerose; ED: Erkrankungsdauer; BMI: Body Mass Index; HF: Herzfrequenz; RR: Blutdruck; * statistisch signifikant.

3.1.2 Kardiovaskuläre Risikofaktoren

Ein Vergleich der Prävalenz kardiovaskulärer Risikofaktoren sowohl für die Gruppen ISSc und dSSc als auch von Frauen und Männern ist in der Tabelle 6 dargestellt.

In der Studienpopulation konnte bei 37.8% der Patienten ein arterieller Hypertonus und bei 59.1% eine Hypercholesterinämie nachgewiesen werden, lediglich drei der 74 Patienten (4.0%) waren adipös. Bei 6.8% bestand zum Studienzeitpunkt ein Diabetes mellitus und 7.1% gaben an, aktiv zu rauchen. Hierbei zeigte sich bei den Männern ein größerer Anteil an aktiven Rauchern (33.3%) im Vergleich zu den Frauen (3.3%, $p=0.013$). Ein Diabetes mellitus kam bei 13.2% der Patienten mit ISSc vor, bei den Probanden mit dSSc litt hingegen keiner an dieser Erkrankung ($p=0.056$). Bezüglich der restlichen Parameter ließen sich in den Gruppenanalysen keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede nachweisen.

Tabelle 6: Kardiovaskuläre Risikofaktoren, Mikro- und Makrovaskulopathie

	ISSc (%)	dSSc (%)	p	Frauen (%)	Männer (%)	p
Diabetes mellitus**	13.2	0.0	0.056	6.6	9.1	0.575
Adipositas	0.0	8.6	0.101	4.8	0.0	1.000
Hypercholesterinämie**	60.0	58.1	1.000	59.6	55.6	1.000
arterielle Hypertonie	38.5	37.1	1.000	39.7	27.3	0.581
Raucher	2.7	12.1	0.181	3.3	33.3	0.013*
Mikrovaskulopathie**	40.6	62.9	0.089	49.1	70.0	0.310
Makrovaskulopathie	15.4	22.9	0.554	15.9	36.4	0.203

Anteil der Patienten mit positiver Merkmalsausprägung (%) in der jeweiligen Gruppe. Vergleich von ISSc (N=39) und dSSc (N=35) bzw. Frauen (N=63) und Männern (N=11) unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p<0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. dSSc: diffuse systemische Sklerose; ISSc: limitierte systemische Sklerose; *statistisch signifikant; **unvollständig, 1-2% missing values.

3.1.3 Mikro- und Makrovaskulopathie

Wie zuvor unter Abschnitt 2.2.5 aufgeführt, fand eine Charakterisierung der Patienten bezüglich der Merkmale Mikro- und Makrovaskulopathie statt. Tabelle 6 veranschaulicht das Vorkommen dieser zwei Merkmalsausprägungen in der Studienkohorte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sowohl das Vorhandensein einer Mikro- als auch einer Makrovaskulopathie weder mit den unterschiedlichen Verlaufsformen der SSc noch mit der Geschlechterzugehörigkeit statistisch signifikant assoziiert war. Allerdings zeigte sich eine etwas erhöhte Prävalenz mikrovaskulopathischer Erkrankungen bei Patienten mit diffuser Verlaufsform (62.9 vs. 40.6% bei ISSc, $p=0.089$).

3.1.4 Erkrankungsmanifestationen der systemischen Sklerose

Die mit der SSc assoziierten Erkrankungsmanifestationen wurden anhand des Fragebogens des Deutschen Netzwerkes für Systemische Sklerose erfasst (siehe Abschnitt 2.2.3). Eine Übersicht der Merkmalsausprägungen ist in der Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Erkrankungsmanifestationen

	SSc gesamt (%)	lSSc (%)	dSSc (%)	p-Wert
Hautsklerose	97.3	94.9	100.0	0.495
Raynaud-Phänomen	97.3	94.9	100.0	0.495
Digitale Ulzerationen (anamnestisch)	36.5	25.6	48.6	0.054
Lungenfibrose	16.2	2.6	31.4	0.001*
PAH**	17.6	18.2	17.1	1.000
Kardiale Beteiligung**	12.9	7.1	5.7	1.000
eingeschränkte LVEF (<55%)**	7.0	5.4	8.8	0.665
Perikarderguss	5.4	5.1	5.7	1.000
Diastolische Dysfunktion	28.4	33.3	22.9	0.439
Peri-/Myokarditis (anamnestisch)	2.7	0.0	5.7	0.220
EKG irregulär**	27.0	29.0	25.0	0.782
Renale Beteiligung**	13.7	7.9	20.0	0.179
GFR <60 ml/min***	4.1	5.1	2.9	1.000
renale Krise/Dialyse i.d.A.	2.7	2.6	2.9	1.000
Proteinurie**	8.2	0.0	17.1	0.010*
Gastrointestinale Beteiligung	74.0	76.3	71.4	0.790
Dysphagie	59.5	59.0	60.0	1.000
sonstige sympt. GI-Beteiligung	43.8	44.7	42.9	1.000
Ösophagusmotilitätsstörung (Diagnostik bei N=40)****	87.5	80.0	95.0	0.342
muskuloskeletale Beteiligung	65.8	51.3	82.4	0.007*
Beteiligung Nervensystem	17.6	23.1	11.4	0.231

Anteil der Patienten (%) von SSc gesamt (N=74), lSSc (N=39) und dSSc (N=35), bei denen jeweilige Erkrankungsmanifestationen vorliegen. Vergleich von lSSc und dSSc unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. SSc: systemische Sklerose; lSSc: limitierte systemische Sklerose; dSSc: diffuse systemische Sklerose; PAH: pulmonal arterielle Hypertonie; LVEF: linksventrikuläre Ejektionsfraktion; GFR: Glomeruläre Filtrationsfraktion; *statistisch signifikant; **unvollständig, 1-2% missing values.***Berechnung anhand MDRD und nach Ausschluß eines Diabetes mellitus/ einer arteriellen Hypertonie; **** gesichert durch Szintigraphie/ Röntgen-Breischluck/ Manometrie.

Von einem Raynaud-Phänomen und einer Hautbeteiligung im Sinne einer Sklerodermie waren nahezu alle Patienten der Studiengruppe betroffen (je 97.3%). Bei 16.2% der Patienten wurde eine Lungenfibrose und bei 17.6% eine PAH diagnostiziert. Hierbei kam die Lungenfibrose statistisch signifikant häufiger bei Patienten mit dSSc als bei Patienten mit lSSc vor (31.4 vs. 2.6%, $p = 0.001$). Von einer renalen Beteiligung ist anhand der Daten bei 13.7% aller Studienteilnehmer auszugehen, und es zeigte sich, dass eine Proteinurie signifikant häufiger bei Patienten mit dSSc vorhanden war als bei Patienten mit limitierter Verlaufsform (17.1 vs. 0.0%, $p = 0.010$). Eine kardiale Beteiligung im Rahmen der Grunderkrankung

war in 12.9% der Fälle zu verzeichnen. Beschwerden im Bereich der Verdauungsorgane wurden von der Mehrheit der Patienten angegeben. Bei immerhin 35 von 40 Patienten wurde in der Bildgebung eine Motilitätsstörung des Ösophagus im Krankheitsprozess gesichert, sodass in Zusammenschau der Befunde bei 74.0% der Studienpatienten eine mit der SSc assoziierte gastrointestinale Beteiligung diagnostiziert wurde. Des Weiteren fand sich bei 65.8% aller Patienten eine krankheitsbedingte Beteiligung des Bewegungsapparates, wobei dies deutlich häufiger bei der diffusen als bei der limitierten Verlaufsform der SSc vorkam (82.4 vs. 51.3%; $p=0.007$). Digitale Ulzerationen in der Krankengeschichte fanden sich bei insgesamt 27 der 74 Studienteilnehmer. Hier ergab sich im Gruppenvergleich eine erhöhte Prävalenz bei Patienten mit dSSc (48.6%) im Vergleich zu Patienten mit lSSc (5.6%), wengleich dieser Unterschied statistisch nicht signifikant war ($p=0.054$).

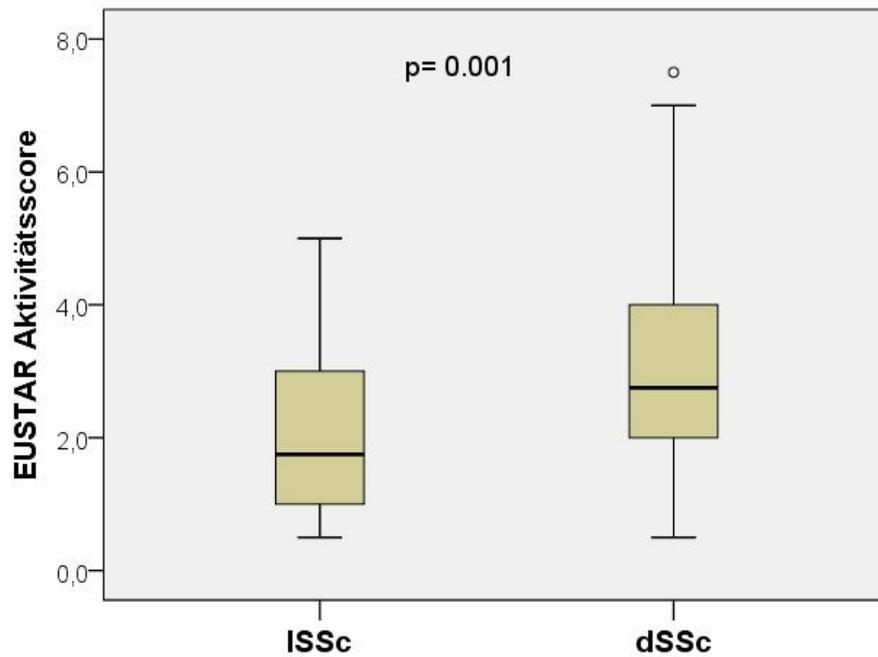
3.1.5 Erkrankungsaktivität, Hautbeteiligung und Lungenfunktion

Für die Einschätzung der Schwere der SSc eignen sich sowohl der modifizierte Rodnan Skin Score, der Aktivitätsscore der EUSTAR [178, 179] als auch Parameter der bodyplethysmographischen Lungenfunktionsmessung zur Beurteilung pulmonaler Restriktions- und Diffusionsstörungen.

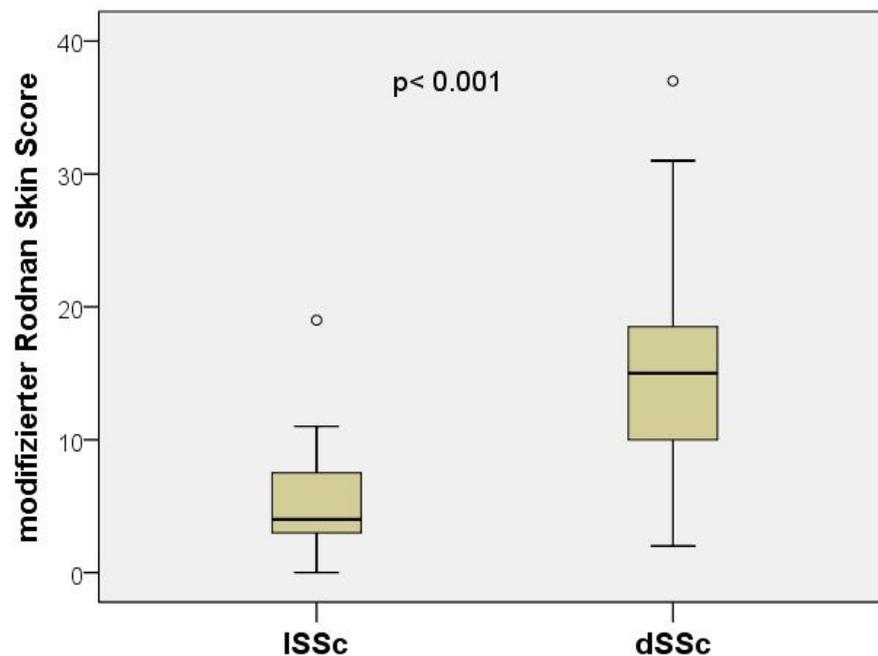
Wie aus den Abbildungen 4 a) und b) ersichtlich wird, ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der Hautklerose und der Erkrankungsaktivität zwischen den verschiedenen SSc-Subtypen. So hatten Patienten mit diffuser SSc einen deutlich erhöhten modifizierten Rodnan Skin Score mit 15 (19-9) Punkten im Vergleich zu Patienten mit lSSc und 4 (8-3) Punkten ($p<0.001$).

Der EUSTAR Aktivitätsscore betrug für die Gesamtkohorte 2.5 (3.5-1.0) Punkte, und war bei Patienten mit dSSc mit 3.0 (4.5-2.0) Punkten im Vergleich zu Patienten mit lSSc mit 2.0 (3.0-1.0) Punkten statistisch signifikant erhöht ($p=0.001$).

Die erhöhte Prävalenz einer Lungenfibrose bei Patienten mit dSSc wurde bereits im Abschnitt 1.1.6 erwähnt. Darüber hinaus zeigte sich in der gleichen Gruppe eine stärkere Einschränkung einzelner Lungenfunktionsparameter (siehe Tabelle 8). Es fanden sich sowohl signifikant reduzierte Werte für die totale Lungenkapazität (TLC, 90.7 vs. 101.0%, $p=0.008$), die forcierte Vitalkapazität (FVC, 88.7 vs. 97.8%, $p=0.001$), die Einsekundenkapazität (FEV_1 , 87.4 vs. 93.1%, $p=0.013$) als auch für die Diffusionskapazität (DLCOc, 52.8 vs. 62.3%, $p=0.014$) im Vergleich zu Patienten mit lSSc. Der Tiffeneau-Index ($FEV_1\%$ FVC) lag bei beiden Gruppen im Normbereich von $\geq 75\%$, die Medianwerte waren hier in der Gruppe dSSc statistisch signifikant besser als in der Gruppe lSSc (87.7% vs. 81.8%, $p=0.005$). Der KCO (Krogh Factor) lag bei Patienten mit lSSc bei 74.4% und bei Patienten mit dSSc bei 70.0% und unterschied sich jedoch nicht signifikant voneinander ($p=0.128$).



a)



b)

Abbildung 4: Beurteilung von a) Erkrankungsaktivität mittels Aktivitätsscore der EUSTAR [178, 179] und b) Hautbeteiligung anhand des modifizierten Rodnan Skin Scores (mRSS) bei Patienten mit ISSc und dSSc

a) EUSTAR Aktivitätsscore bei Patienten mit ISSc (N=38) und dSSc (N=34) und b) mRSS bei Patienten mit ISSc (N=39) und dSSc (N=35). Vergleich von ISSc und dSSc unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. Box stellt Median und 75.-25. Perzentil dar.

Tabelle 8: Lungenfunktionsparameter

	ISSc (N=39)		dSSc (N=35)		p-Wert
	(% vom Soll-Wert)		(% vom Soll-Wert)		
TLC (Liter)**	101.0	(110.5 - 91.3)	90.7	(99.8 - 82.9)	0.008*
FVC (Liter)	97.8	(107.5 - 87.6)	88.7	(96.2 - 69.2)	0.001*
FEV ₁ (Liter)	93.1	(102.2 - 87.2)	87.4	(95.4 - 70.8)	0.013*
FEV ₁ /FVC (%)**	81.8	(84.6 - 76.1)	87.7	(91.5 - 80.6)	0.005*
DLCOc (mmol/min/kPa)	62.3	(73.7 - 49.0)	52.8	(65.0 - 39.7)	0.014*
KCO (DLCOc/VA)	74.4	(83.7 - 65.1)	70.0	(80.3 - 60.9)	0.128

Daten als Median (75.-25. Perzentil) in %/Soll-Wert (außer FVC%/DLCOc%). Vergleich von ISSc und dSSc unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. ISSc: limitierte systemische Sklerose; dSSc diffuse systemische Sklerose; TLC: totale Lungenkapazität; FVC: forcierte Vitalkapazität; FEV₁:Einsekundenkapazität; FEV₁%FVC: Tiffeneau Index; DLCOc: Diffusionskapazität (Hämoglobin korrigiert); KCO (DLCOc/VA): Diffusionskappazität pro Alveolarvolumen (Krogh Factor); *statistisch signifikant; **unvollständig, 1-2% missing values.

3.1.6 Laborchemische Parameter

Standardlaborparameter

Eine Übersicht wichtiger Standardlaborparameter bietet Tabelle 9. Im Vergleich der Gruppen ISSc und dSSc zeigte sich, dass sowohl die Konzentration vom C-reaktiven Protein (0.32 vs. 0.11 mg/dl, $p = 0.001$) als auch die Blutsenkungsgeschwindigkeit (22 vs. 16 mm/h, $p = 0.004$) bei Patienten mit dSSc signifikant erhöht waren. Werte vom high-density lipoprotein (HDL) waren in der Gruppe der Patienten mit limitierter Verlaufsform etwas höher als bei Patienten mit dSSc (66.0 vs. 58.0 mg/dl, $p = 0.026$) und die glomeruläre Filtrationsrate bei Patienten mit dSSc besser als bei Patienten mit ISSc (90.7 vs. 83.2 ml/min (1.73m²); $p = 0.032$). Die Werte für Gesamtcholesterin, LDL, Triglyceride, Glucose, HbA1c sowie die Komplementfaktoren C3 und C4 unterschieden sich in den Gruppen ISSc und dSSc nicht signifikant voneinander.

Frauen und Männer unterschieden sich geringfügig betreffend ihrer Glucosekonzentrationen im Serum, die bei den weiblichen Teilnehmern mit einem Median von 80.5 mg/dl niedriger war als bei den männlichen Probanden mit einem Median von 89.0 mg/dl ($p = 0.028$). Für die übrigen Parameter zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Frauen und Männern.

Autoantikörper

Antinukleäre Antikörper (ANA) ließen sich im Blutserum von insgesamt 71 der 74 Patienten (95,9%) nachweisen (Tabelle 10). In der Gruppe mit ISSc wurden bei 35 Patienten die extrahierbaren nukleären Antikörper (ENA) bestimmt, wovon bei 19 Patienten (54,3%) anti-Centromer-Antikörper (ACA) und bei 6 Patienten (17,1%) anti-Sc170-Antikörper nachgewiesen werden konnten.

In der Gruppe der Studienteilnehmer mit dSSc ließen sich bei 24 (68,6%) anti-Sc170-

Tabelle 9: Laborparameter

	ISSc (N=39)	dSSc (N=35)	p-Wert	Frauen (N=63)	Männer (N=11)	p-Wert
CRP,mg/dl	0.11 (0.33-0.06)	0.32 (0.63-0.16)	0.001*	0.20 (0.51-0.06)	0.26 (1.22-0.12)	0.251
BSG,mm/h	16 (30-10)	22 (40-20)	0.004*	20 (32-14)	30 (40-12)	0.378
Cholesterin,mg/dl**	215.0 (254.0-178.0)	211.0 (237.0-171.0)	0.525	211.0 (248.0-178.0)	215.0 (237.0-155.0)	0.449
HDL,mg/dl**	66.0 (79.0-55.5)	58.0 (66.0-42.0)	0.026*	63.0 (75.5-50.0)	54.0 (63.0-35.0)	0.156
LDL,mg/dl**	114.0 (151.5-91.5)	117.0 (146.8-93.8)	0.876	121.0 (151.8-93.3)	110.0 (138.0-79.0)	0.418
TG,mg/dl**	98.0 (134.5-71.5)	116.0 (154.5-84.5)	0.075	106.0 (141.3-75.5)	108.0 (158.3-84.3)	0.540
Glucose,mg/dl	80.0 (88.5-73.5)	84.0 (90.0-80.0)	0.141	80.5 (88.5-75.5)	89.0 (90.0-85.0)	0.028*
HbA1c,%**	5.4 (5.8-5.2)	5.4 (5.6-5.1)	0.391	5.4 (5.8-5.1)	5.4 (5.5-5.3)	0.728
C3,mg/dl	105.0 (116.0-92.0)	114.0 (120.5-100.5)	0.092	106.0 (119.3-93.5)	114.0 (128.0-106.0)	0.112
C4,mg/dl	19.0 (25.0-14.0)	21.5 (25.3-18.0)	0.219	21.0 (24.5-15.0)	20.0 (25.0-18.0)	0.562
GFR, ml/min	83.2 (90.5-61.7)	90.7 (102.8-76.7)	0.032*	85.0 (95.1-69.3)	92.2 (106.4-79.6)	0.087

Daten als Median (75.-25.-Perzentil), Vergleich von ISSc und dSSc sowie von Frauen und Männern unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. ISSc: limitierte systemische Sklerose; dSSc diffuse systemische Sklerose; CRP: C-reaktives Protein; BSG: Blutsenkungsgeschwindigkeit; HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein; TG: Triglyceride GFR: glomeruläre Filtrationsrate; *statistisch signifikant; **unvollständig, 1-2% missing values.

Antikörper im Blutserum nachweisen, anti-Centromer-Antikörper kamen bei diesen Patienten hingegen nicht vor.

Tabelle 10: Autoimmunantikörper

	SSc gesamt		lSSc		dSSc		p-Wert
ANA-Positivität	95.9%		97.4%		94.3%		fehlt
ACA-Positivität**	27.9%		54.3%		0.0%		0.000*
anti-Scl70-AK Positivität	42.9%		17.1%		68.6%		0.000*

anti-AT ₁ R-AK, Units**	12.5	(16.4-9.9)	12.3	(16.5-9.5)	13.4	(15.7-10.4)	0.527
anti-ET _A R-AK, Units**	10.1	(16.0-7.3)	8.4	(20.4-5.9)	11.3	(15.0-8.6)	0.260
PAR1-AK, Units***	3.8	(9.4-2.4)	3.4	(10.3-2.4)	4.2	(8.6-2.4)	0.844

Anteil der Patienten (%) mit ANA-, ACA- oder anti-Scl70-Positivität sowie Units der anti-AT₁R-, ET_AR- und PAR1-AK als Median (75.-25.Perzentil). SSc gesamt (N=74), Vergleich von lSSc (N=39) und dSSc (N=35) unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. SSc: systemische Sklerose; lSSc: limitierte systemische Sklerose; dSSc: diffuse systemische Sklerose; ANA: antinukleäre Antikörper; ACA: anti-Centromer-Antikörper; anti-Scl70-AK: anti-Scl70-Antikörper; anti-AT₁R-AK: anti-Angiotensin II Typ 1 Rezeptor-Antikörper; anti-ET_AR-AK: anti-Endothelin-1 Typ A Rezeptor-Antikörper; PAR1-AK: Protease-aktivierte Rezeptor-Antikörper; *statistisch signifikant; **unvollständig, 1-2% missing values, ***SSc gesamt N=65.

Zusätzlich wurden bei der Mehrzahl der Studienpatienten die Serumkonzentrationen für weitere Autoimmunmarker, im Einzelnen Antikörper gegen den Angiotensin II Typ 1 Rezeptor (AT₁R), den Endothelin-1 Typ A Rezeptor (ET_AR) und gegen den Protease-aktivierten Rezeptor (PAR1), untersucht. Dabei waren weder die Konzentrationen der anti-AT₁R- oder anti-ET_AR-Antikörper noch die der Protease-aktivierten Rezeptor-Antikörper häufiger mit einer der beiden Verlaufsformen der SSc assoziiert (Tabelle 10). Zwischen den Serumkonzentrationen der einzelnen Antikörper bestand jeweils ein statistisch signifikanter positiver Zusammenhang (Abbildungen 5 und 6). Die Titer der anti-AT₁R- und anti-ET_AR-Antikörper zeigten eine starke Korrelation ($r = 0.919$, $p < 0.001$, Abb. 5a)). Geringer ausgeprägt aber auch signifikant, bestand eine positive Korrelation sowohl bezüglich der Titer der anti-AT₁R- und PAR1-Antikörper ($r = 0.340$, $p = 0.006$, Abb. 5b)) als auch der PAR1- und anti-ET_AR-Antikörper ($r = 0.284$, $p = 0.022$, Abb. 6).

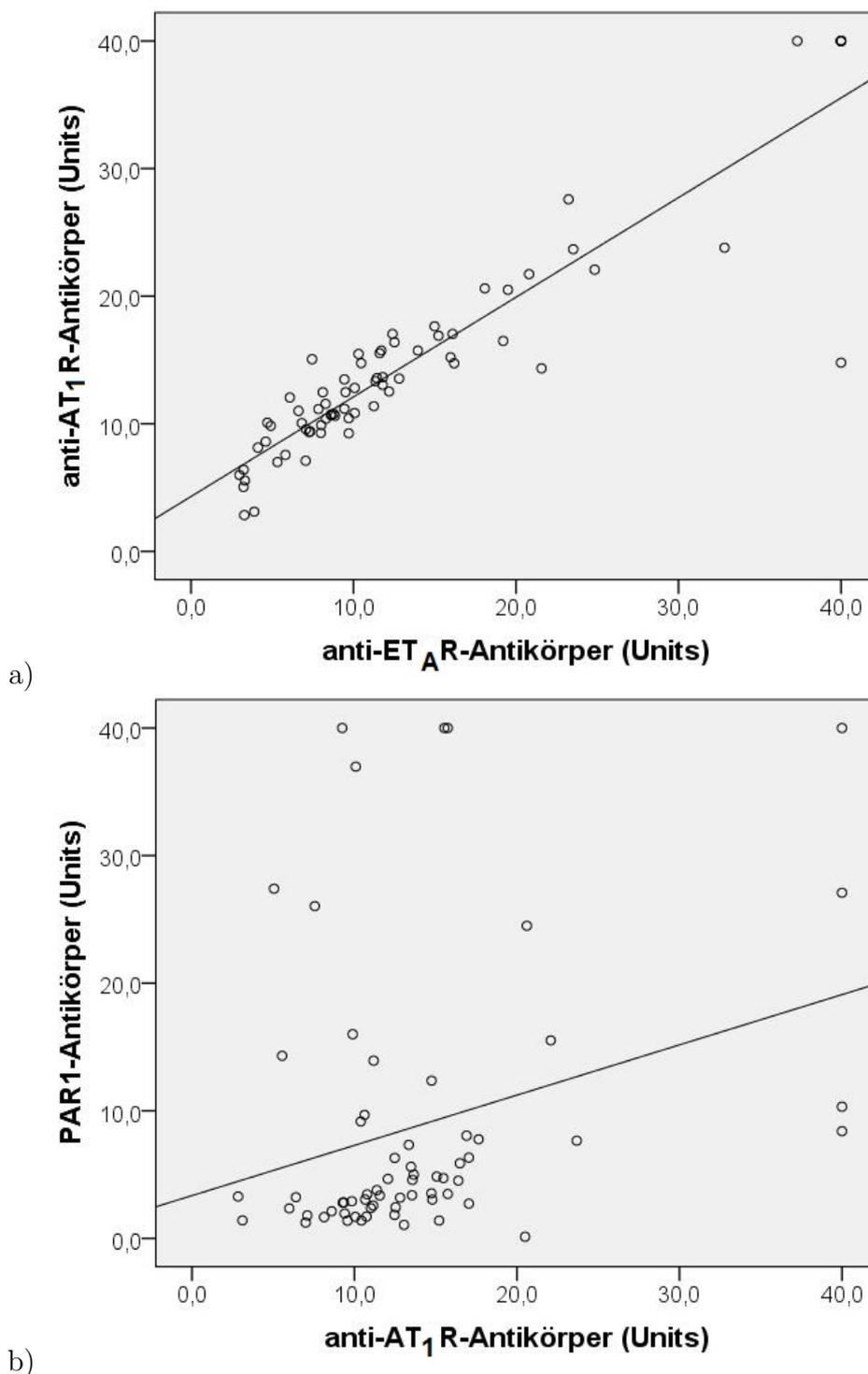


Abbildung 5: Korrelationen der anti-AT₁R-, anti-ET_AR- und PAR1-Autoantikörper Teil I
 Statistisch signifikante Korrelationen zwischen den Serumkonzentrationen der a) anti-AT₁R- und anti-ET_AR-Antikörper ($r = 0.919$, $p < 0.001$, $N = 71$) und den b) anti-AT₁R- und PAR1-Antikörper (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r = 0.340$, $p = 0.006$, $N = 65$) bei den SSc Patienten. anti-AT₁R-AK: anti-Angiotensin II Typ1 Rezeptor-Antikörper; anti-ET_AR-AK: anti-Endothelin-1 Typ A Rezeptor-Antikörper; PAR1-AK: Protease-aktivierte Rezeptor-Antikörper.

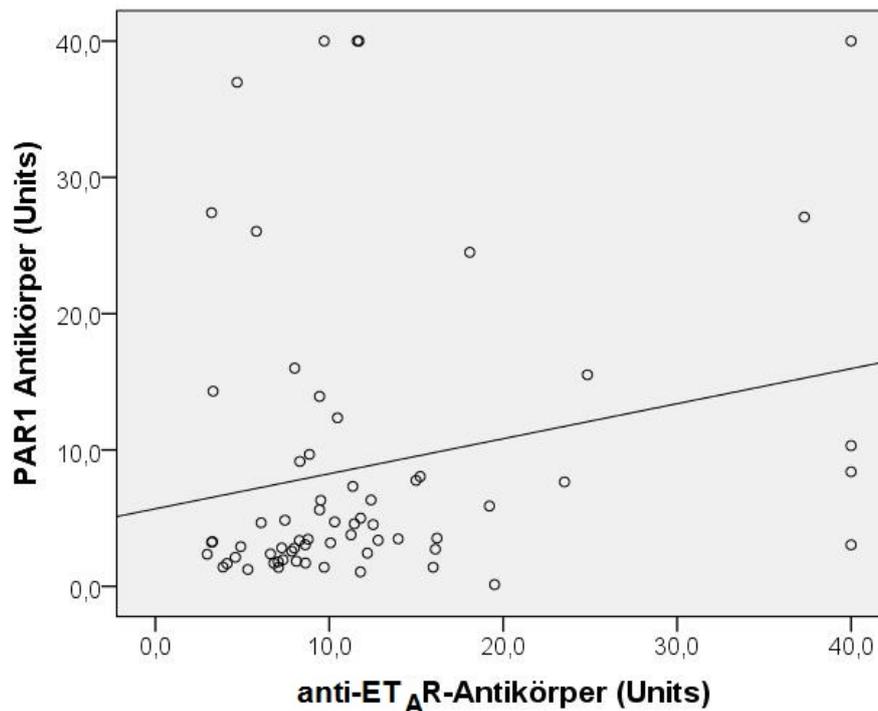


Abbildung 6: Korrelationen der anti-AT₁R, anti-ET_AR- und PAR1-Autoantikörper Teil II
 Statistisch signifikante Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen der anti-ET_AR- und PAR1-Antikörper (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r = 0.284$, $p = 0.022$, $N = 65$) bei den SSc Patienten. anti-ET_AR-AK: anti-Endothelin-1 Typ A Rezeptor-Antikörper; PAR1-AK: Protease-aktivierte Rezeptor-Antikörper.

3.1.7 Medikation

Von der gesamten Studienpopulation ($N = 74$) nahmen insgesamt 42 Patienten (56.8%) Glucocorticoide ein, 18 Patienten (24.3%) befanden sich aktuell in einem Cyclophosphamid-Zyklus und 29 Patienten (39.2%) bekamen mindestens ein weiteres Immunsuppressivum. Vasoaktive Medikamente erhielten 44 Patienten (59.5%), davon 33 ACE- oder AT₁R-Antagonisten (44.6%). Weiterhin standen 13 Patienten (17.6%) unter einer Diuretikatherapie, 7 erhielten Statine und 18 Patienten substituierten Schilddrüsenhormone. Insgesamt haben 20 Patienten (27.0%) innerhalb der vorangegangenen sechs Monate, allerdings nicht innerhalb der letzten vier Wochen, eine Ilomedin-Infusionstherapie erhalten. Die anteilige Medikamenteneinnahme in den SSc-Untergruppen ist aus Abbildung 7 abzulesen. Es zeigte sich, dass signifikant mehr Patienten mit dSSc aktuell in einem Cyclophosphamidzyklus waren als Patienten mit lSSc (45.7 vs. 5.1%, $p < 0.001$).

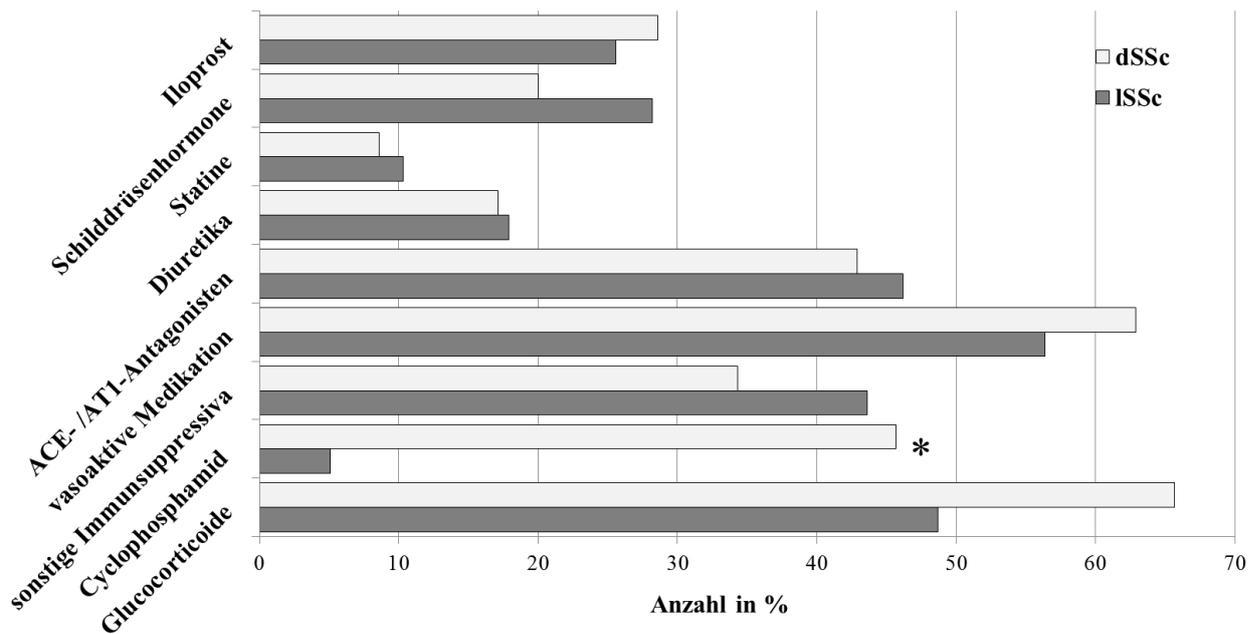


Abbildung 7: Medikamenteneinnahme von lSSc und dSSc

Prozentualer Anteil der Patienten mit lSSc (N=39) bzw. dSSc (N=35), welche die jeweilige Medikation erhielten sowie Vergleich von lSSc und dSSc unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. dSSc: diffuse systemische Sklerose; lSSc: limitierte systemische Sklerose; *statistisch signifikanter Unterschied zwischen lSSc und dSSc.

3.2 Endothelfunktion

3.2.1 Flussmedierte und Nitroglycerin-medierte Vasodilatation

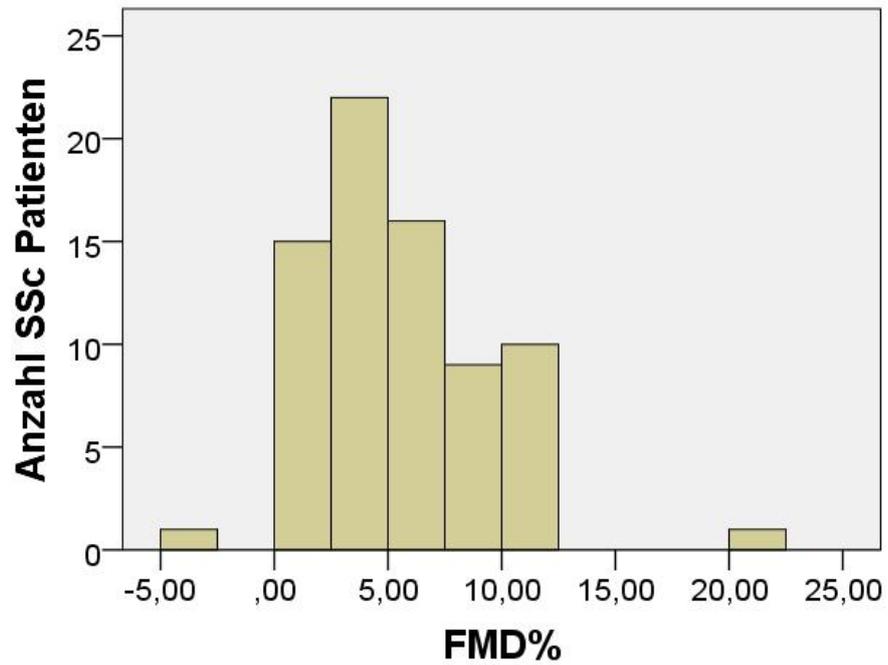
Die Häufigkeitsverteilungen der FMD- und NMD-Messwerte sind in Abbildung 8 dargestellt. Für die 74 SSc-Patienten ergab sich bei der Messung der flussmedierten Vasodilatation ein Median von 4.4% (8.0-2.7%).

Bei 45 Patienten konnte eine Messung der Nitroglycerin-medierten Vasodilatation durchgeführt werden. Für die untersuchte Kohorte ergab sich bezüglich der NMD ein Median von 25.8% (30.9-17.0%).

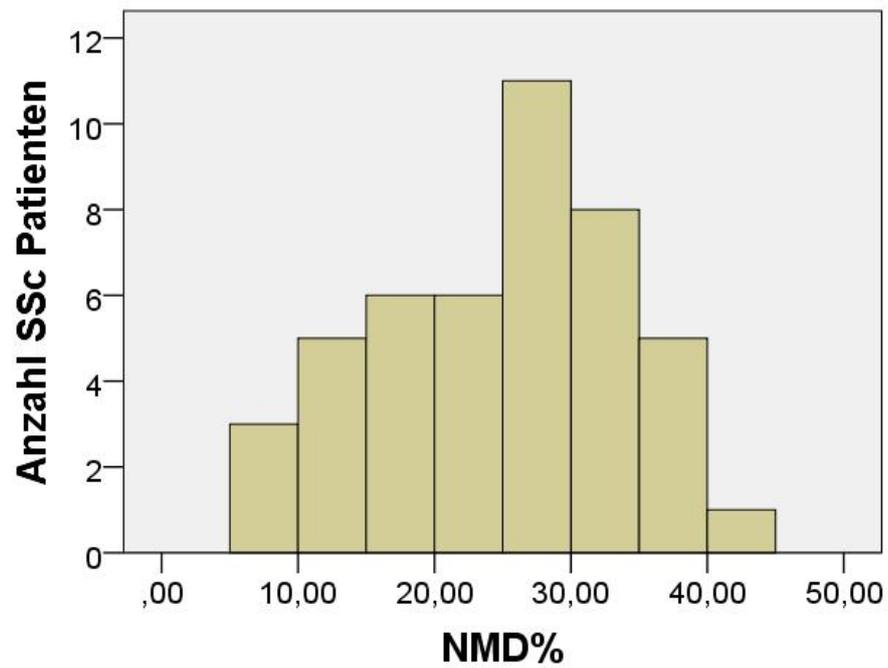
3.2.2 Vergleich der Endothelfunktion bei lSSc und dSSc

Die Patienten der Gruppen lSSc (N=39) und dSSc (N=35) wurden hinsichtlich ihrer Endothelfunktion miteinander verglichen. Wie aus Abbildung 9 ersichtlich wird, unterschieden sich die FMD%-Werte der Patienten mit lSSc (5.7% [8.3-2.9%]) nicht signifikant von denen der Patienten mit dSSc (3.6% [8.0-2.6%]; $p = 0.460$).

Aufgrund der Ungleichheit bezüglich Alter und Erkrankungsdauer wurden die Endothelfunktionswerte der Gruppen lSSc und dSSc zusätzlich unter Berücksichtigung dieser Co-Variablen miteinander verglichen, wobei auch hier kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt wurde ($p = 0.189$ und $p = 0.558$).



a)



b)

Abbildung 8: Häufigkeitsverteilung der FMD- und NMD-Werte

Werte der a) flussmedierten Vasodilatation (FMD%) bei N=74 und der b) Nitroglycerin-medierten Vasodilatation (NMD%) bei N=45 Patienten mit SSc.

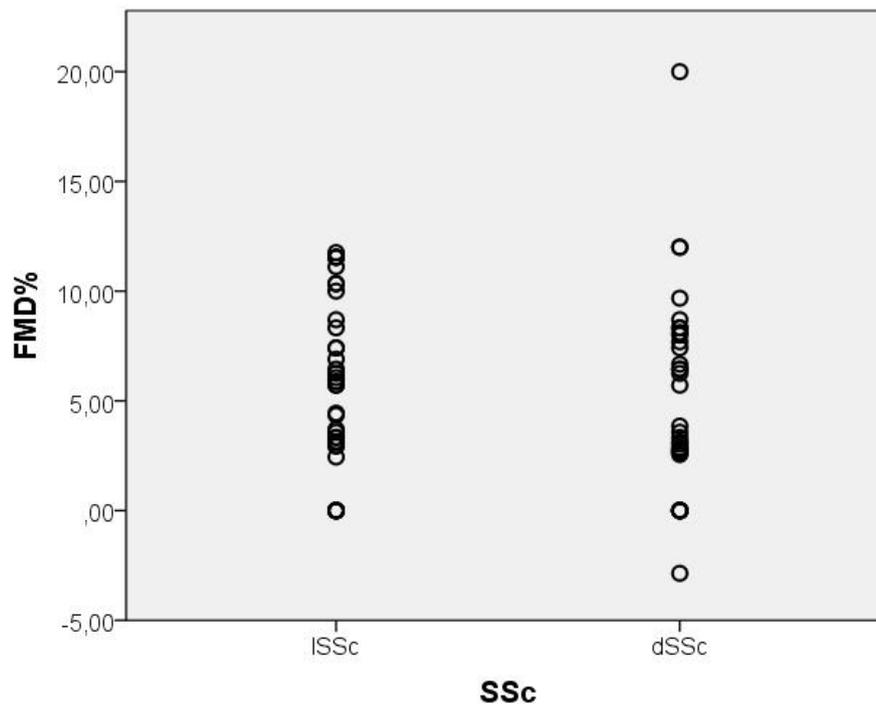


Abbildung 9: FMD-Werte von Patienten mit ISSc und dSSc

Vergleich von ISSc (N=39) und dSSc (N=35), statistisch kein signifikanter Unterschied bezüglich der FMD%-Werte ($p=0.460$). Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test.

3.3 Einflussfaktoren der Endothelfunktion

3.3.1 Endothelfunktion und Baseline-Charakteristika

In der Studienkohorte ließ sich eine schwache inverse Korrelation zwischen dem Alter und der Endothelfunktion der Patienten nachweisen, welche statistisch signifikant war (vgl. Abbildung 10, $r=-0.267$; $p=0.022$).

Zwischen der Erkrankungsdauer und den FMD%-Werten konnte hingegen keine direkte Korrelation, weder für die Gesamtkohorte ($r=0.091$, $p=0.440$) noch für die Subgruppen ISSc ($r=0.057$, $p=0.731$) und dSSc ($r=0.111$, $p=0.526$) beobachtet werden.

Mit einem FMD von 5.7% (8.3-2.9%) ließen sich in der Gruppe der Frauen bessere Endothelfunktionswerte im Vergleich zur Gruppe der Männer mit einem FMD von 2.7% (4.4-0.0%) verzeichnen, allerdings kann dieser Unterschied nicht als statistisch signifikant gewertet werden ($p=0.058$).

Zwischen BMI und FMD%-Werten ließ sich keine signifikante Korrelation nachweisen ($r=0.045$, $p=0.702$). Auch zwischen FMD% und Herzfrequenz ($r=0.031$, $p=0.790$), FMD% und systolischem Blutdruck ($r=-0.140$, $p=0.237$) als auch FMD% und diastolischem Blutdruck ($r=-0.098$, $p=0.409$) bestand kein deutlicher Zusammenhang.

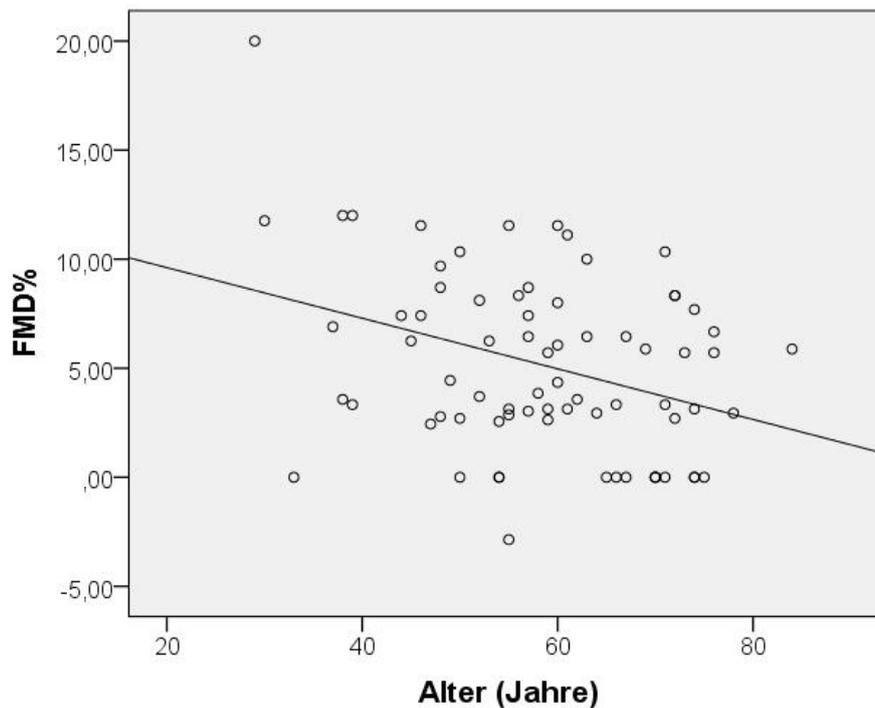


Abbildung 10: Zusammenhang von Alter und FMD

Statistisch signifikante inverse Korrelation zwischen Alter (Jahre) und Werten der flussmedierten Vasodilatation (FMD%) bei 74 SSc-Patienten (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r = -0.267$; $p = 0.022$).

3.3.2 Kardiovaskuläre Risikofaktoren, Endothelfunktion sowie Mikro- und Makrovaskulopathie

In Tabelle 11 ist ersichtlich, dass in der vorliegenden Studie kein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einzelner kardiovaskulärer Risikofaktoren und der Endothelfunktion der SSc-Patienten gefunden wurde.

Zusätzlich wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und dem Vorliegen einer Mikro- beziehungsweise einer Makrovaskulopathie (Kriterien unter Abschnitt 2.2.5) bei den Studienteilnehmern untersucht (vgl. Abbildung 11).

Bei insgesamt 14 der 74 SSc-Patienten (18.9%) lag klinisch mindestens eine makrovaskulopathische Erkrankung vor. Bezüglich ihrer Endothelfunktion unterschieden sich diese Patienten allerdings nicht signifikant von den Patienten *ohne* makrovaskulopathische Erkrankungsmanifestation (FMD 5.8% [8.0-2.8%] vs. 3.8% [7.9-2.7%]; $p = 0.857$).

Das Vorliegen einer mikrovaskulopathischen Erkrankungsmanifestation konnte bei insgesamt 67 Probanden beurteilt werden. Hierbei ließ sich für die 35 Patienten *mit* klinischer Mikrovaskulopathie im Vergleich zu den Patienten *ohne* klinische Mikrovaskulopathie keine statistisch signifikante Einschränkung der Endothelfunktion nachweisen (FMD 4.4% [7.6-2.7%] vs. 6.0% [8.3-2.9%]; $p = 0.399$).

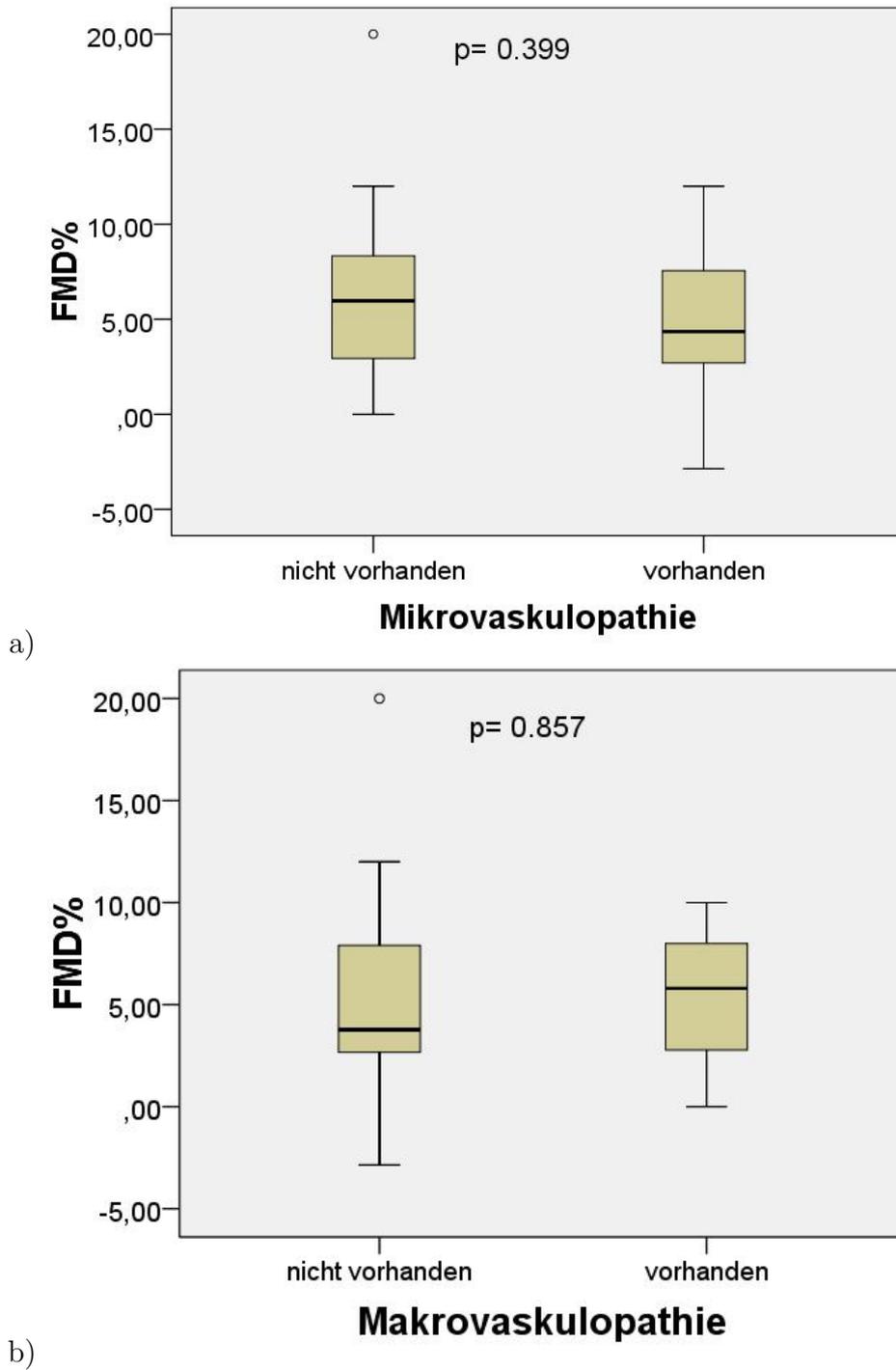


Abbildung 11: FMD und Vorliegen einer Mikro-/ einer Makrovaskulopathie

Vergleich der flussmedierten Vasodilatation (FMD%) bei a) SSc-Patienten *mit* (N=35) und *ohne* (N=32) klinischer Mikrovaskulopathie und bei b) SSc-Patienten *mit* (N=14) und *ohne* (N=60) klinischer Makrovaskulopathie unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. Box stellt Median (75.-25. Perzentil) dar. Statistisch kein signifikanter Unterschied der Endothelfunktion (FMD) in Abhängigkeit vom Vorhandensein einer Mikro- bzw. einer Makrovaskulopathie in der Studienkohorte.

Tabelle 11: FMD und kardiovaskuläre Risikofaktoren

klinisches Merkmal	Risikofaktor vorhanden		Risikofaktor <i>nicht</i> vorhanden		p-Wert
	Anteil(%)	FMD%	Anteil (%)	FMD%	
Diabetes mellitus*	6.9	3.7(11.5-3.6)	93.1	4.4(7.4-2.7)	0.498
Adipositas	4.1	3.0(5.5-1.5)	95.9	4.4(7.9-2.7)	0.527
Hypercholesterinämie*	59.1	3.3(7.0-2.7)	40.9	5.7(8.1-2.8)	0.381
arterielle Hypertonie	37.8	3.6(7.7-2.9)	62.2	5.7(8.3-2.6)	0.784
Raucher	7.1	7.4(9.7-3.3)	92.9	4.4(7.7-2.7)	0.293

Prozentualer Anteil der SSc-Patienten (N=74) „mit“ bzw. „ohne“ kardiovaskulärem Risikofaktor, FMD% als Median (75.-25. Perzentil). Vergleich der FMD%-Werte der SSc-Patienten „mit“ bzw. „ohne“ kardiovaskulärem Risikofaktor unter Angabe des p-Wertes. Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, zweiseitiges Signifikanzniveau, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet.*unvollständig, 1-2% missing values.

3.3.3 Endothelfunktion und Erkrankungsmanifestationen

Ein wesentliches Ziel dieser Studie war es, die Endothelfunktion der Patienten hinsichtlich der mit der SSc assoziierten Erkrankungsmanifestationen zu untersuchen. Hierfür wurde ein Vergleich der FMD%-Werte der Studienpatienten durchgeführt, abhängig davon, ob eine entsprechende Erkrankungsmanifestation bei ihnen vorlag oder nicht. Die wesentlichen Ergebnisse zu dieser Fragestellung sind in der Tabelle 12 aufgeführt (Kriterien der einzelnen Erkrankungsmanifestationen unter Abschnitt 2.2.3).

Es zeigte sich, dass weder das Vorhandensein einer Lungenfibrose noch einer PAH oder eine kardiale SSc-Beteiligung signifikant mit einer veränderten Endothelfunktion der Studienpatienten zusammenhängen ($p = 0.350$, 0.809 und 0.543). Allerdings konnte in der Gesamtkohorte beobachtet werden, dass eine reduzierte linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) $< 55\%$ tendenziell mit schlechteren FMD%-Werten einherging als eine LVEF $> 55\%$ ($0.0\%[4.8-0.0\%]$ vs. $5.7\%[8.3-2.8\%]$, $p = 0.059$).

Bei den zehn Patienten mit vermeintlich renaler Beteiligung wurde überraschenderweise eine Tendenz zu besseren Endothelfunktionswerten im Vergleich zu Patienten ohne renale Involvierung festgestellt (FMD $7.9\%[11.2-5.0\%]$ vs. $3.7\%[7.4-2.6\%]$), wobei auch dieses Ergebnis oberhalb des statistischen Signifikanzniveaus lag ($p = 0.053$).

Patienten, bei denen in der Vergangenheit digitale Ulzerationen aufgetreten sind, hatten verglichen mit Patienten ohne diese mikrovaskulopathische Krankheitsmanifestation keine relevant veränderten FMD%-Werte ($p = 0.517$).

Sowohl das Vorkommen einer gastrointestinalen SSc-Beteiligung als auch die Beteiligung des Bewegungsapparates oder des Nervensystems hatten jeweils keinen relevanten Einfluss auf die FMD%-Werte ($p = 0.241$, 0.620 und 0.545).

Tabelle 12: FMD und Erkrankungsmanifestationen

Erkrankungsmanifestation	FMD%		p-Wert
	Manifestation vorhanden	Manifestation <i>nicht</i> vorhanden	
Lungenfibrose	7.2(11.1-2.6)	4.1(7.4-2.7)	0.350
PAH**	5.0(7.8-2.9)	5.7(8.2-2.7)	0.809
Kardiale Beteiligung**	3.1(6.5-2.8)	5.7(8.3-2.6)	0.543
LVEF <55%**	0.0(4.8-0.0)	5.7(8.3-2.8)	0.059
Perikarderguss	4.4(7.0-0.8)	4.4(8.2-2.7)	0.614
diastolische Dysfunktion	3.3(6.4-2.9)	5.7(8.3-2.5)	0.568
EKG Irregularität**	5.7(8.7-2.7)	5.0(8.0-1.8)	0.554
Renale Beteiligung**	7.9(11.2-5.1)	3.7(7.4-2.6)	0.053
GFR <60 ml/min*	5.9(10.0-3.1)	3.9(7.7-2.6)	0.406
Proteinurie**	6.8(10.3-2.0)	4.4(8.0-2.7)	0.487
Gastrointestinale Beteiligung	5.7(8.3-2.8)	3.3(6.6-1.2)	0.241
Beteiligung Bewegungsapparat	4.4(8.2-2.7)	3.6(7.4-0.0)	0.620
Beteiligung Nervensystem	6.5(8.7-3.0)	4.4(7.7-2.7)	0.545
Ulzerationen (anamnestisch)	3.3(7.0-2.7)	5.9(8.1-2.7)	0.517

Vergleich der FMD%-Werte von 74 SSc-Patienten (unter Angabe des p-Wertes) in Abhängigkeit davon, ob Erkrankungsmanifestation vorliegt oder nicht. FMD% als Median (75.-25. Perzentil). Berechnung des p-Wertes durch Mann-Whitney-U Test, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. PAH: pulmonal arterielle Hypertonie; LVEF: linksventrikuläre Ejektionsfraktion; * Berechnung anhand MDRD und nach Ausschluß eines Diabetes mellitus/ einer artriellen Hypertonie, ** unvollständig, 1-2% missing values.

3.3.4 Endothelfunktion unter Berücksichtigung vom mRSS, Lungenfunktionsparametern und Erkrankungsaktivität

Zwischen den FMD%-Werten und den Summenscores des modifizierten Rodnan Skin Scores (mRSS) der Studienpatienten ließ sich eine schwache inverse Korrelation feststellen, die allerdings statistisch nicht signifikant war ($r = -0.210$, $p = 0.072$, vgl. Abbildung 12).

Hinsichtlich der Lungenfunktionsparameter ließ sich eine signifikante Korrelation zwischen den Werten der flussmedierten Vasodilatation und dem Tiffeneau-Index bei insgesamt 71 SSc Patienten nachweisen ($r = 0.271$, $p = 0.022$), was in Abbildung 13 veranschaulicht ist. Kein signifikanter Zusammenhang konnte bezüglich FMD%-Werten und den restlichen der erhobenen Lungenfunktionsparameter (vgl. Abschnitt 3.1.5) beobachtet werden.

Um festzustellen, inwiefern Endothelfunktion und Erkrankungsaktivität miteinander assoziiert sind, wurde bei 72 Patienten die flussabhängige Vasodilatation (FMD) mit den Punktwerten des von der EUSTAR empfohlenen Erkrankungsaktivitätsscores (Valentini et al.[178, 179], vgl. Abschnitt 2.2.4) auf eine mögliche Korrelation hin untersucht. Hierbei konnte keine statistisch signifikante Korrelation der Parameter nachgewiesen werden ($r = -0.63$, $p = 0.601$, vgl. Abbildung 14).

Die gleiche Fragestellung wurde zusätzlich getrennt für die Gruppen lSSc und dSSc un-

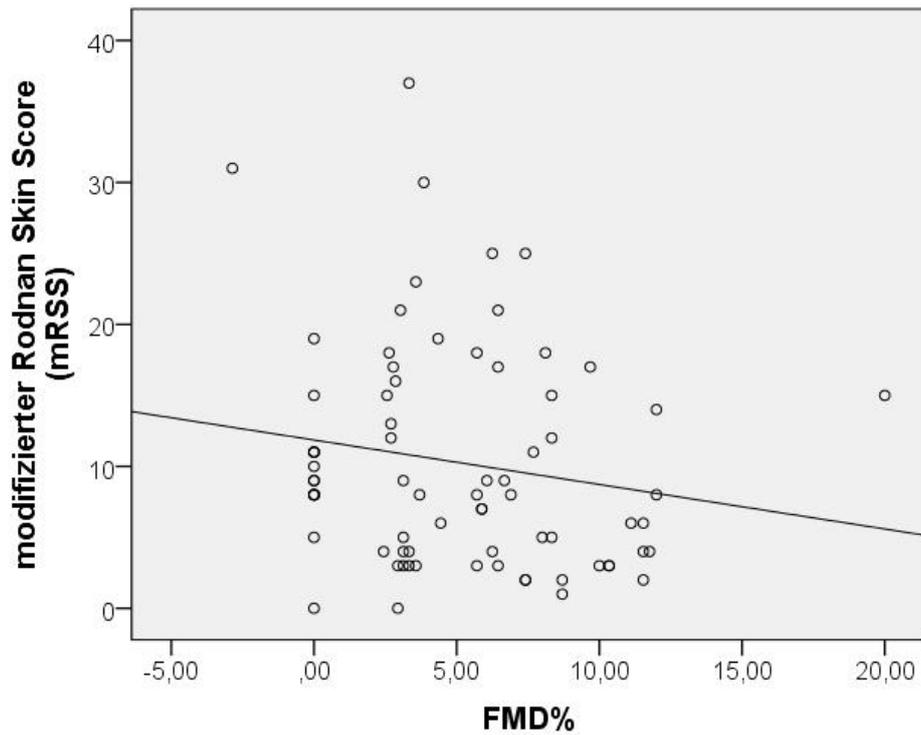


Abbildung 12: FMD und modifizierter Rodnan Skin Score (mRSS)

Statistisch keine signifikante Korrelation zwischen Punktwerten des mRSS und FMD% (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r = -0.210$; $p = 0.072$) bei 74 Patienten mit SSc.

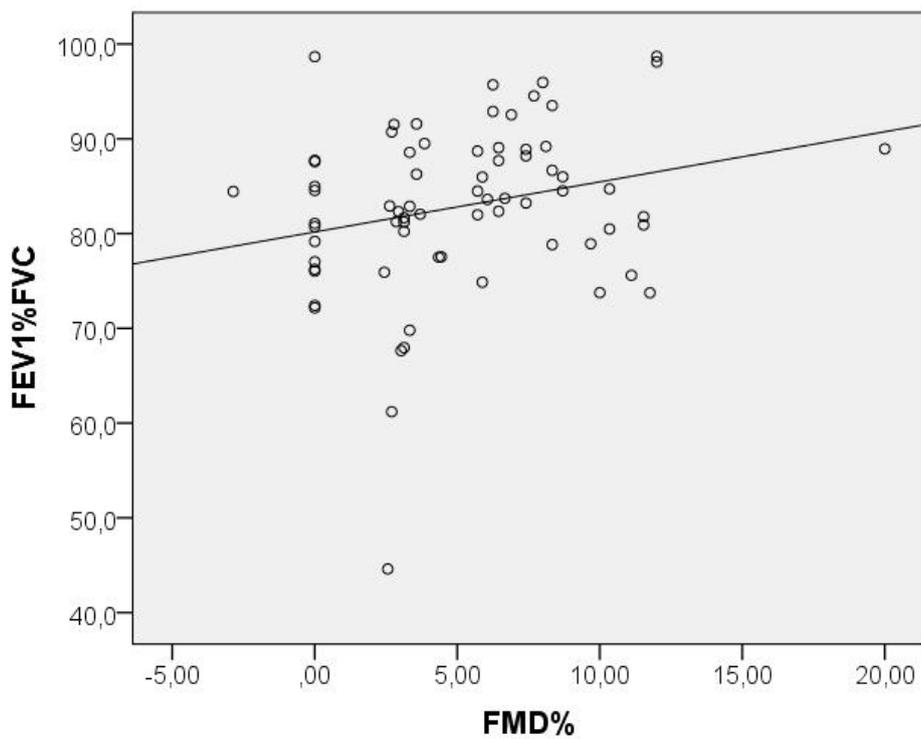


Abbildung 13: FMD und Tiffeneau-Index ($FEV_1\%FVC$)

Schwache, aber statistisch signifikante Korrelation zwischen FMD% und Tiffeneau-Index ($FEV_1\%FVC$) bei 71 Patienten mit SSc (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r = 0.271$; $p = 0.022$).

tersucht und zeigte, dass weder für Patienten mit lSSc noch für Patienten mit dSSc ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den FMD-Werten und den Summscores der Erkrankungsaktivität bestand ($r = -0.031$, $p = 0.851$ und $r = -0.087$, $p = 0.623$).

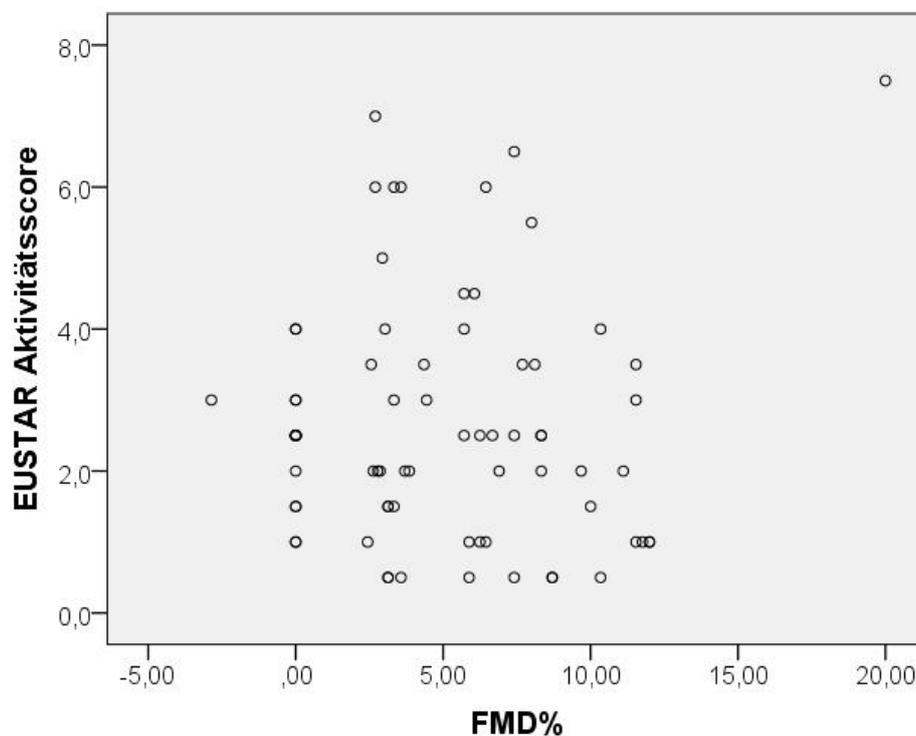


Abbildung 14: FMD und EUSTAR-Aktivitätsscore

Statistisch keine signifikante Korrelation zwischen FMD% und Aktivitätsscore der EUSTAR (Valentini et al.[178, 179]) bei 72 Patienten mit SSc (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r = -0.063$, $p = 0.601$).

3.3.5 Endothelfunktion, Standardlabor und Autoantikörper

Die bei den Studienteilnehmern gemessenen Laborparameter, die entweder aufgrund ihrer Bedeutung für das allgemeine kardiovaskuläre Risiko (Cholesterin, HDL, LDL und Triglyceride) oder auch als mögliche Marker für die Erkrankungsaktivität (CRP, BSG, Komplementfaktoren C3 und C4) von Interesse waren, wurden hinsichtlich ihres Zusammenhangs mit der Endothelfunktion separat untersucht.

Tabelle 13: FMD und laborchemische Parameter

Parameter 1	Parameter 2	r	p-Wert
FMD%	Cholesterin (mg/dl)*	- 0.045	0.719
FMD%	HDL (mg/dl)*	- 0.052	0.665
FMD%	LDL (mg/dl)*	- 0.013	0.912
FMD%	Triglyzeride (mg/dl)*	- 0.045	0.711
FMD%	CRP (mg/dl)	- 0.074	0.532
FMD%	BSG (mm/h)	- 0.200	0.087
FMD%	C3 (mg/dl)	- 0.065	0.587
FMD%	C4 (mg/dl)	- 0.042	0.722

Korrelationen zwischen FMD% und Serumkonzentrationen einzelner Laborparameter, Angabe des Korrelationskoeffizienten (r) und des p-Wertes. Spearman-Rho Korrelationskoeffizient r, zweiseitiges Signifikanzniveau p, $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. FMD: flussmedierte Vasodilatation; HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein; CRP: C-reaktives Protein; BSG: Blutsenkungsgeschwindigkeit.*unvollständig, 1-2% missing values.

Hierbei zeigte sich, dass jeweils keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen dieser Laborparameter und den FMD%-Messwerten in der Studienkohorte vorlag (Tabelle 13). Die FMD%-Werte unterschieden sich nicht signifikant in Abhängigkeit vom Vorhandensein beziehungsweise Nichtvorhandensein von ACA ($p = 0.837$) oder anti-Sc170-AK ($p = 0.178$).

Des Weiteren wurde untersucht, ob sich ein möglicher Zusammenhang zwischen den FMD%-Werten und den Serumentern der unter Abschnitt 2.5 aufgeführten Autoantikörper auffinden ließ. In den Abbildungen 15 und 16 wird ersichtlich, dass hier weder mit den Titern der anti-Angiotensin II Typ1 Rezeptor- (anti-AT₁R-) Antikörper ($r = 0.168$, $p = 0.161$), denen der anti-Endothelin-1 TypA Rezeptor- (anti-ET_AR-) Antikörper ($r = 0.106$, $p = 0.380$) noch zwischen FMD%-Messwerten und den Serumleveln der Protease-aktivierten Rezeptor- (PAR1-) Autoantikörper ($r = -0.079$, $p = 0.531$) eine statistisch signifikante Korrelation besteht.

Die gleiche Analyse wurde erneut in Abhängigkeit davon durchgeführt, ob die Patienten zum Zeitpunkt der Studienteilnahme eine medikamentöse Therapie mit ACE-AT₁- und beziehungsweise oder Endothelin (ET-)-Antagonisten erhielten oder nicht (Tabelle 14). Dabei zeigte sich, dass auch abhängig davon, ob eine solche Medikation bestand, keine statistisch signifikante Korrelation zwischen FMD% und den jeweiligen Antikörpertitern vorlag.

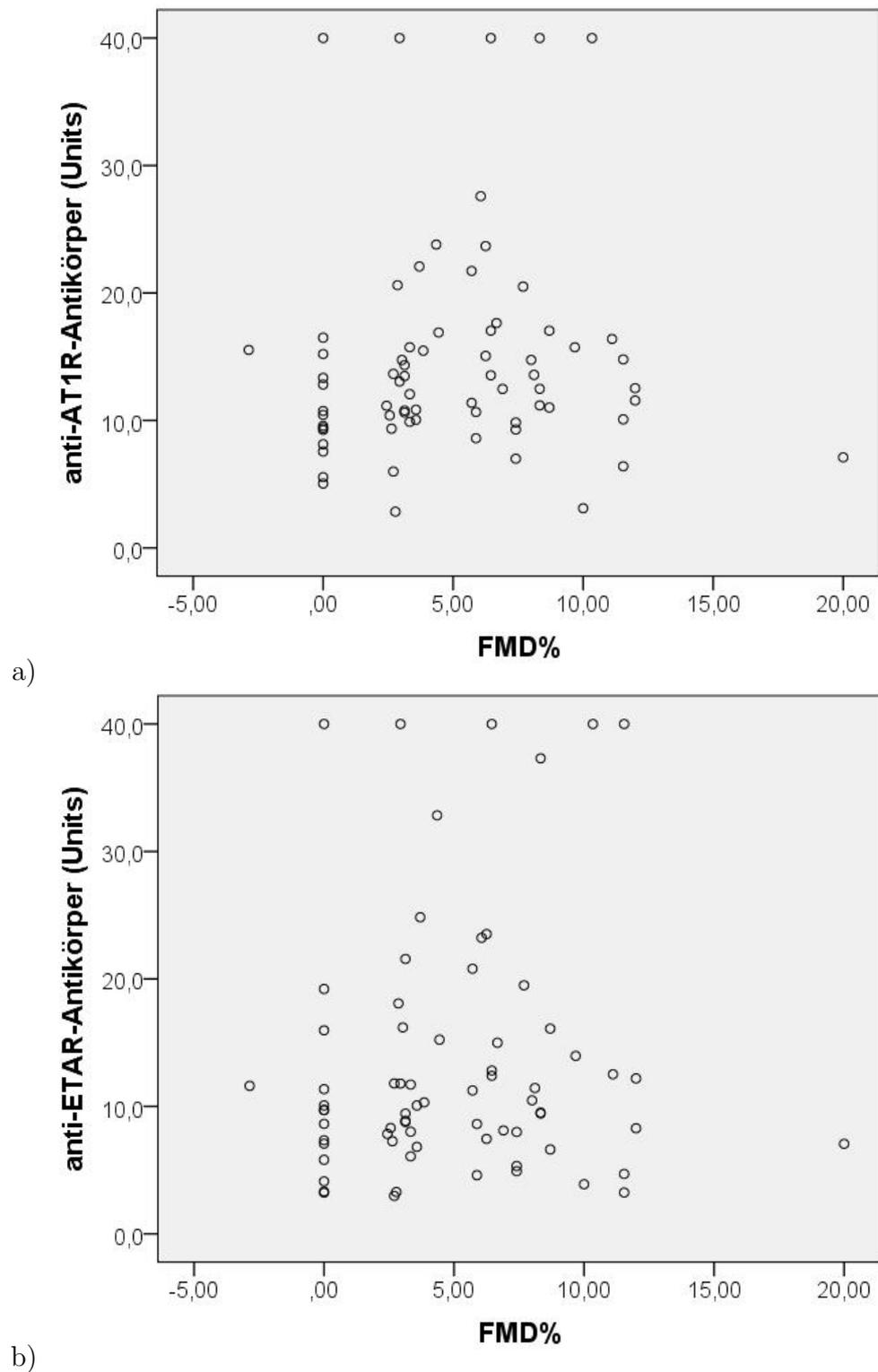


Abbildung 15: FMD und anti-AT₁R, anti-ET_AR- und PAR1-Autoantikörper Teil I
 Statistisch keine signifikanten Korrelationen zwischen FMD%-Werten und Serumkonzentrationen der a) anti-AT₁R- (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r=0.168$, $p=0.161$) und b) anti-ET_AR- ($r=0.106$, $p=0.380$)-Autoantikörper bei den SSc Patienten der Studienkohorte (N=71 bei a) und b)). anti-AT₁R-AK: anti-Angiotensin II Typ1 Rezeptor-Antikörper; anti-ET_AR-AK: anti-Endothelin-1 TypA Rezeptor-Antikörper.

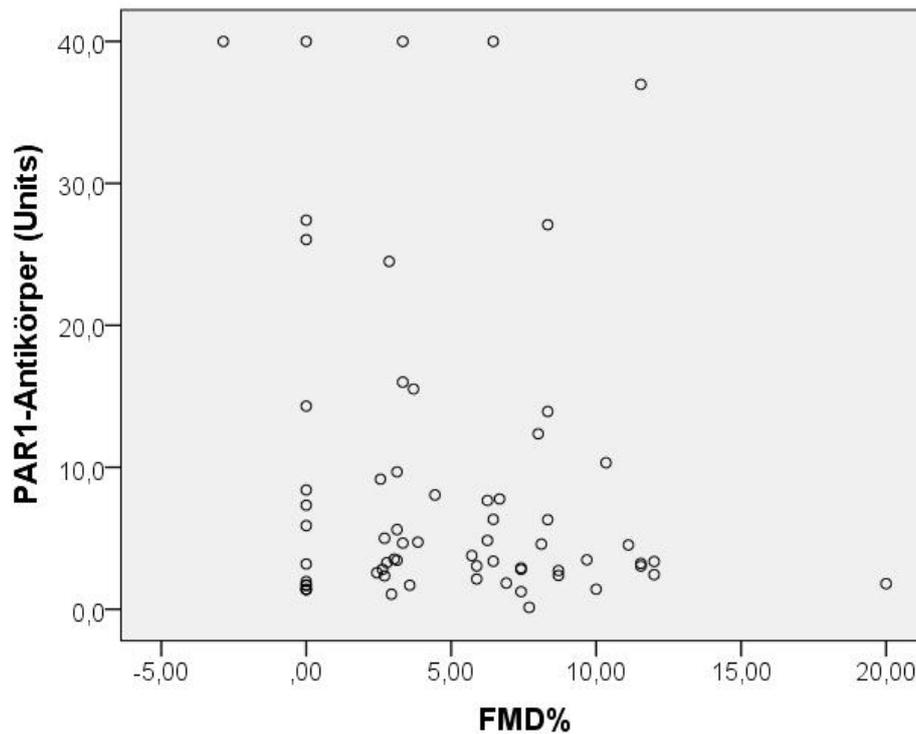


Abbildung 16: FMD und anti-AT₁R, anti-ET_AR- und PAR1-Autoantikörper Teil II
 Statistisch keine signifikanten Korrelationen zwischen FMD%-Werten und Serumkonzentrationen der PAR1-Autoantikörper (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient $r = -0.079$, $p = 0.531$) bei $N = 65$ SSc Patienten. PAR1-AK: Protease-aktivierte Rezeptor-Antikörper.

Tabelle 14: Korrelation von FMD und Autoantikörpertitern unter Einfluss von ACE-/AT₁- und ET-Antagonisten

Parameter 1	Parameter 2	ACE-/AT ₁ -/ET-Antagonisten			
		Therapie (N=34)		keine Therapie (N=37)	
		r	p-Wert	r	p-Wert
FMD%	anti-AT ₁ R-AK (Units)	0.287	0.100	0.087	0.609
FMD%	anti-ET _A R-AK (Units)	0.250	0.154	0.017	0.919
FMD%	PAR1-AK (Units)*	0.024	0.898	-0.183	0.292

Korrelationen zwischen FMD% und Titern einzelner Autoantikörper bei SSc in Abhängigkeit davon, ob eine Therapie mit ACE-/AT₁- und/oder ET-Antagonisten vorliegt oder nicht. Spearman-Rho Korrelationskoeffizient (r), zweiseitiges Signifikanzniveau p , $p < 0.05$ wird als statistisch signifikant gewertet. FMD: flussmedierte Vasodilatation; ACE: Angiotensin Converting Enzyme; AT₁: Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1; ET: Endothelin; anti-AT₁R-AK: anti-Angiotensin II Typ1 Rezeptor-Antikörper; anti-ET_AR-AK: anti-Endothelin-1 TypA Rezeptor-Antikörper; PAR1-AK: Protease-aktivierte Rezeptor-Antikörper. *unvollständig, $N = 30$ mit Therapie und $N = 35$ ohne Therapie.

3.4 Patienten mit „guter“ und Patienten mit „schlechter“ Endothelfunktion

Abschließend sollte untersucht werden, inwiefern eine Charakterisierung von Patienten mit „guter“ beziehungsweise mit „schlechter“ Endothelfunktion möglich ist.

Zu diesem Zweck wurden anhand der FMD%-Werte der Studienkohorte folgende Gruppen gebildet:

- Gruppe 1 FMD < 3.0% Patienten mit „schlechter“ Endothelfunktion
- Gruppe 2 FMD = 3.0-6.5% Patienten mit „eingeschränkter“ Endothelfunktion
- Gruppe 3 FMD > 6.5% Patienten mit „guter“ Endothelfunktion

Obwohl statistisch nicht signifikant, hatten Patienten mit „schlechter“ Endothelfunktion im direkten Vergleich zu Patienten mit „guter“ Endothelfunktion ein höheres Lebensalter (65[71-54] vs. 55[62-45] Jahre, $p=0.056$).

In Gruppe 1 (FMD < 3.0%) waren im Verhältnis zur Gruppe 3 die Werte für die Blut-senkungsgeschwindigkeit etwas erhöht (21[32-18] vs. 16[27-10] mm/h, $p=0.057$) und die Patienten hatten insgesamt geringfügig höhere CRP-Werte als Patienten mit einer Endothelfunktion >3% (0.33[0.59-0.13] vs. 0.19[0.43-0.06]mg/dl, $p=0.088$).

Des Weiteren zeigte sich, dass eine „schlechte“ Endothelfunktion mit einem höheren Punktwert im modifizierten Rodnan Skin Score einherging (11[15-8] vs. 6[13-3] Punkte für Patienten mit „guter“ Endothelfunktion), wobei auch dieser Unterschied als statistisch nicht signifikant gewertet werden musste ($p=0.087$).

In der Gruppe mit „schlechter“ Endothelfunktion war der Anteil der Männer mit 29.2% höher als in der Gruppe mit einer FMD von >3% (8.0% Männer), und entgegengesetzt der Anteil der Frauen in der Gruppe 1 mit 70.8% niedriger als bei den Patienten, die eine Endothelfunktion >3% aufwiesen (92.0%). Dass Männer eher zu schlechteren und Frauen eher zu besseren Endothelfunktionswerten tendierten war statistisch signifikant ($p=0.032$).

Außerdem konnte festgestellt werden, dass ein FMD <3% im Vergleich zu einem FMD >3% statistisch signifikant mit einem niedrigeren Tiffeneau-Index ($FEV_1\%FVC$) assoziiert war (81.2[85.6-76.0]% vs. 85.3[91.7-80.6]%, $p=0.045$) und mit einem niedrigeren Titer für anti-AT₁R-Antikörper einherging (10.6[14.8-8.4] Units vs. 13.5[17.0-10.7] Units, $p=0.042$).

3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie erfolgte bei insgesamt 74 Patienten mit SSc die Evaluation der Endothelfunktion durch Messung der flussabhängigen Vasodilatation (FMD) der A. brachialis. Zusätzlich wurde eine Reihe sowohl klinischer als auch laborchemischer und funktioneller Parameter erhoben. Ziel der Studie war es, einen möglichen Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und klinischer Präsentation der Patienten zu untersuchen. Folgende Ergebnisse konnten dabei festgestellt werden:

- kein statistisch signifikanter Unterschied der FMD%-Werte von Patienten mit limitierter und diffuser SSc
- Abnahme der Endothelfunktion mit zunehmendem Alter ($r = -0.267$, $p = 0.022$)
- Tendenz für bessere Endothelfunktionswerte bei Frauen im Vergleich zu Männern (5.7% [8.3-2.9%] vs. 2.7% [4.4-0.0%], $p = 0.058$)
- kein Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und EUSTAR Aktivitätsscore ($r = -0.63$, $p = 0.601$)
- kein Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und Vorliegen klinisch manifester vaskulopathischer Erkrankungen
- keine Assoziation zwischen Endothelfunktion und einzelnen Erkrankungsmanifestationen
- kein Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren
- keine Assoziation zwischen anti-AT₁R-, anti-ET_textAR- und PAR1- Antikörpern und der endothelialen Funktion der Patienten
- schlechtere Endothelfunktionswerte gingen (z.T. statistisch signifikant) mit erhöhten Werten im Rodnan Skin Score, einer erhöhten BSG sowie einer reduzierten LVEF < 55% und einem niedrigeren Tiffeneau-Index einher

Kapitel 4

Diskussion

4.1 Studienergebnisse und Literaturvergleich

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob bei Patienten mit SSc Assoziationen zwischen endothelialer Funktion und klinischen Erkrankungsmanifestationen bestehen. Zu diesem Zweck evaluierten wir bei insgesamt 74 Patienten mit SSc die Endothelfunktion mittels FMD der A. brachialis. Im Folgenden werden die Ergebnisse diskutiert und dabei mit den Resultaten der unter Abschnitt 1.3.1 vorgestellten Literatur verglichen.

In unserer Studienkohorte ermittelten wir eine mediane FMD von 4,4% (8,0-2,7%). Unter Berücksichtigung der großen Streuung der FMD-Werte stimmen unsere Ergebnisse mehrheitlich mit denen der Literatur zur FMD bei Patienten mit SSc überein [56, 158, 159, 161–165, 168, 169]. Lediglich zwei Arbeiten geben mehr als doppelt so hohe FMD-Werte bei SSc an [166, 170]. Außerdem gaben die meisten der vorausgegangenen Studien an, dass die FMD bei Patienten mit SSc im Vergleich zu gesunden Kontrollen eingeschränkt ist [158–169]. Lediglich zwei von 14 Arbeiten konnten diesbezüglich keine Unterschiede zwischen SSc-Patienten und gesunden Probanden finden [56, 170]. Da die FMD vor allem NO-vermittelt abläuft, lässt sich vermuten, dass bei SSc eine reduzierte Bioverfügbarkeit von NO vorliegt. Histopathologisch können bei Patienten mit SSc vaskuläre Veränderungen im Sinne einer mikrovaskulären Obliteration und Intimafibrose nachgewiesen werden [58, 59]. In der Vergangenheit wurde außerdem eine reduzierte Dehnbarkeit der Gefäße bei Patienten mit SSc beschrieben [56]. Die daraus resultierende Einschränkung der Scherkraftwirkung des Blutstroms im Rahmen einer reaktiven Hyperämie, die ein Stimulus für die NO-Freisetzung ist, kann als möglicher Erklärungsansatz für die herabgesetzte NO-Verfügbarkeit betrachtet werden. Gestützt wird der Erklärungsansatz der reduzierten Bioverfügbarkeit von NO bei SSc außerdem von der Beobachtung einiger Studien, die hinsichtlich der NMD keinen Unterschied zwischen gesunden Kontrollen und SSc-Patienten feststellen konnten [56, 161–163, 165, 170]. Allerdings stehen diese Angaben im Widerspruch zu vier Arbeiten, die bei SSc auch eine Reduktion der endothelunabhängigen Vasodilatation vorfanden [158–160, 166]. Die mediane NMD in unserer Kohorte (N=45) lag bei 25,8% und war damit ähnlich hoch wie die von gesunden Kontrollen bei der Mehrheit der Referenzstudien [56, 158–160, 163, 166, 170]. Wir vermuten daher, dass die endothelunabhängige Vasodilatation in unserer SSc-Kohorte nicht eingeschränkt war.

Insgesamt ist aber ein Vergleich von FMD- und auch NMD-Werten unterschiedlicher Studien schwierig, da zum einen in der Literatur keine allgemeingültigen Referenzwerte bei gesunden Probanden existieren und zum anderen auch die Messwerte der einzelnen Studien

mitunter erheblich variieren.

Eine Zielsetzung unserer Studie war es, Patienten mit ISSc und dSSc hinsichtlich ihrer endothelialen Funktion miteinander zu vergleichen. Hierbei konnten wir keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Verlaufsformen feststellen. Unsere Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen sämtlicher Arbeiten überein, die ebenfalls dieser Fragestellung nachgingen [162, 167, 169, 170, 172]. Es lässt sich somit vermuten, dass in beiden Subgruppen der Anteil an Patienten mit subklinischer Gefäßschädigung vergleichbar und möglicherweise auch das kardiovaskuläre Risiko ähnlich hoch ist. Dies ist auch deshalb interessant, weil die ISSc nach wie vor häufig als die „mildere“ der beiden SSc-Subtypen betrachtet wird; vermutlich dadurch, dass die dSSc mit ihrem erhöhten Anteil an innerer Organbeteiligung und damit assoziierter erhöhter Mortalität oftmals einen dramatischeren klinischen Verlauf nimmt. Da jedoch die endotheliale Funktion bei beiden Gruppen ähnlich eingeschränkt ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Vaskulopathie als wesentliches Charakteristikum der SSc unabhängig von deren Verlaufsform vergleichbar ausgeprägt ist.

Bei den Frauen unserer Studienkohorte konnten wir tendenziell etwas bessere Endothelfunktionswerte als bei den männlichen Studienteilnehmern feststellen. In der Referenzliteratur fehlen Angaben zu diesem Thema. Durch Untersuchungen von gesunden Probanden konnte aber bereits in der Vergangenheit festgestellt werden, dass insbesondere prämenopausale Frauen im Vergleich zu Männern bessere Endothelfunktionswerte aufweisen [136, 138], und es wurde bereits darauf eingegangen, dass dieser Effekt wahrscheinlich hormonell bedingt ist (vgl. Abschnitt 1.2.3). Der Trend, den wir in unserer SSc-Kohorte verzeichnen konnten, ist somit vergleichbar mit den Beobachtungen über geschlechtsspezifische Unterschiede der Endothelfunktion bei Gesunden. Allerdings bestand in unserer Kohorte ein Missverhältnis der Gruppengrößen mit einer fast sechsfach höheren Anzahl an Frauen als Männern, und es wäre denkbar, dass sich hier bei Ausgleich der Fallzahlen vielleicht doch signifikante Ergebnisse aufzeigen ließen. Außerdem waren unsere weiblichen Studienpatienten signifikant älter als die Männer, und die meisten befanden sich zum Studienzeitpunkt in der Postmenopause, so dass bereits von einer Reduktion des protektiven Östrogeneffektes ausgegangen werden muss. Das höhere Alter und der wahrscheinlich hohe Anteil an postmenopausalen Frauen könnten dazu geführt haben, dass der geschlechtsspezifische Unterschied bezüglich endothelialer Funktion nicht signifikant ausgeprägt war.

Wir beobachteten eine Verschlechterung der Endothelfunktion mit zunehmendem Alter unserer Studienteilnehmer. Neben der vorliegenden Studie wurde außerdem in vier weiteren Arbeiten untersucht, inwiefern sich ein Zusammenhang aus Alter und Endothelfunktion bei Patienten mit SSc ableiten lässt. Dabei gab die Mehrzahl dieser Studien an, dass Alter und FMD bei Patienten mit SSc nicht miteinander korrelieren [56, 162, 164], was im Widerspruch zu unseren Ergebnissen steht, die auf eine Abnahme der Endothelfunktion mit zunehmenden Alter der Patienten hinweisen. Nur eine Studie beschrieb ebenso wie wir eine signifikante Assoziation von Alter und Endothelfunktion bei SSc [166], und wie aus den Daten von *Szücs et al.*[162] zu erkennen ist, bestand in ihrer SSc-Kohorte ebenso wie in unserer ein inverser Zusammenhang zwischen Alter und FMD, der dort allerdings gerade nicht signifikant war. Die Abweichung unserer Beobachtung zu den drei erstgenannten Arbeiten mit maximal 35 SSc-Patienten ist möglicherweise dadurch erklärbar, dass unsere Daten aufgrund der größeren Studienpopulation vergleichsweise repräsentativer sind. Darüber hinaus wurde bereits sowohl in Kohorten mit gesunden Probanden als auch bei

Studienpatienten mit anderen Erkrankungen eine Abnahme der Endothelfunktion mit zunehmenden Lebensalter beschrieben [90, 135, 166].

Zusätzlich zum Alter untersuchten wir, ob möglicherweise Endothelfunktion und Erkrankungsdauer bei SSc miteinander assoziiert sind, konnten diesbezüglich aber weder in der Gesamtkohorte noch in der Einzelbetrachtung der Gruppen lSSc und dSSc signifikante Zusammenhänge feststellen. Zu diesem Ergebnis kamen auch fünf von sechs Arbeiten, die ebenfalls dieser Fragestellung nachgegangen sind [56, 160, 162, 164, 168]. Abweichende Ergebnisse wurden von *Takahashi et al.* [169] vorgestellt, die für Patienten mit lcSSc eine inverse Korrelation zwischen Erkrankungsdauer und FMD angaben. Die Aussagekraft dieser Angaben ist allerdings aufgrund der geringen Anzahl an Patienten mit lcSSc (N=14) deutlich eingeschränkt.

Es gibt mehrere Ansätze, die den fehlenden Zusammenhang zwischen Erkrankungsdauer und endothelialer Funktion erklären könnten. Einerseits ist es sehr schwierig, den genauen Erkrankungsbeginn der SSc zu definieren, da insbesondere frühe Symptome häufig unerkannt bleiben. Darüber hinaus ist es denkbar, dass die Endothelfunktion bei SSc bereits sehr früh eingeschränkt ist, und sie somit langfristigen Veränderungen, die im Rahmen der Erkrankung entstehen, einige Zeit vorausgehen könnte. Eine fehlende Korrelation ist möglicherweise aber auch dadurch erklärbar, dass bei der SSc insgesamt eher kein linearer Zusammenhang zwischen Dauer und Schwere der Erkrankung besteht, und eine endotheliale Dysfunktion mit unterschiedlicher Kinetik einhergehen könnte.

Neben Alter und Erkrankungsdauer untersuchten wir außerdem, inwiefern Herzfrequenz, BD oder auch BMI mit der endothelialen Funktion unserer Probanden assoziiert sind, konnten diesbezüglich allerdings keine signifikanten Zusammenhänge feststellen. In der Literatur wurde diesen Fragestellungen nur vereinzelt nachgegangen. So fanden *Cypiene et al.* in ihrer SSc-Kohorte ebenso wie wir keinen deutlichen Zusammenhang zwischen BD oder BMI und endothelialer Funktion [165]. Davon abweichend waren die Ergebnisse einer zweiten Arbeitsgruppe, die eine signifikante Assoziation von BMI und FMD bei SSc feststellte [166]. Eine dritte Studie gab darüber hinaus an, dass zwischen FMD und systolischem BD bei Patienten mit SSc eine signifikante inverse Korrelation besteht [56]. Die zum Teil abweichenden Ergebnisse der erwähnten Studien könnten auch hier durch die Heterogenität der Studiengruppen sowie die geringen Stichprobengrößen erklärbar sein.

Das Vorhandensein bestimmter kardiovaskulärer Risikofaktoren (Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie, Adipositas) bei einem Teil unserer Patienten führte entgegen unserer initialen Annahme zu nicht wesentlich veränderten FMD-Werten. Auch das Vorliegen beziehungsweise Fehlen von klinisch manifesten makro- oder mikrovaskulopathischen Erkrankungsmerkmalen war nicht mit einer signifikant unterschiedlichen endothelialen Funktion assoziiert. Inwiefern bei Patienten mit SSc ein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren und endothelialer Funktion besteht, wurde unseres Wissens nach bisher nur von einer weiteren Arbeit untersucht [164]. Obwohl sich das Profil der untersuchten Risikofaktoren in dieser Studie (Hypercholesterinämie, Hypertonie, Hypertriglyzeridämie und Nikotinabusus) geringfügig von unserem unterscheidet, kamen die Autoren ebenso wie wir zu dem Schluss, dass bei Patientin mit SSc keine signifikanten Assoziationen zwischen ihrer Endothelfunktion und den einzelnen Risikofaktoren vorliegen.

Wie unter Abschnitt 1.2.3 vorgestellt, wurde allerdings bereits durch eine Vielzahl von Un-

tersuchungen an anderen Studienkollektiven belegt, dass zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren und endothelialer Funktion eine deutliche Wechselbeziehung besteht [122, 123, 126–128]. Diesen Zusammenhang konnten wir in unserer SSc Kohorte nicht bestätigen. Möglicherweise ist dies aufgrund des heterogenen Krankheitsbildes der SSc erklärbar, bei dem von einer Interaktion sowohl krankheitsspezifischer mit zum Teil auch mehreren kardiovaskulären Risikofaktoren auszugehen ist. Die Prävalenz einzelner kardiovaskulärer Risikofaktoren war außerdem teilweise sehr gering (z.B. Diabetes mellitus), so dass ein fehlender Zusammenhang auch durch zu geringe Fallzahlen in der untersuchten Kohorte bedingt sein könnte. Es ist allerdings auch denkbar, dass bei Patienten mit SSc andere Faktoren, beispielsweise inflammatorischer oder struktureller Genese, den Einfluss kardiovaskulärer Risikofaktoren möglicherweise überwiegen.

Bezogen auf eine unserer zentralen Fragestellungen kann an dieser Stelle festgehalten werden, dass weder in der Gesamtkohorte noch in der Einzelbetrachtung von lSSc oder dSSc ein signifikanter Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und klinisch manifesten vaskulopathischen Erkrankungen zu beobachten war. Auch zwischen weiteren SSc-typischen Erkrankungsmerkmalen und endothelialer Funktion konnten wir keine signifikanten Assoziationen ableiten.

Wir stellten fest, dass eine positive Anamnese für digitale Ulzerationen nicht mit der endothelialen Funktion assoziiert ist. In der Literatur fanden sich zwei weitere Arbeiten, die ebenso wie wir keinen Zusammenhang zwischen FMD und dem Vorliegen digitaler Ulzerationen auffinden konnten [162, 164]. Im Unterschied dazu gaben die Autoren einer dritten Arbeitsgruppe an, dass bei ihrer Kohorte von Patienten mit lcSSc, welche eine besonders stark reduzierte FMD aufwiesen, die Prävalenz digitaler Ulzerationen signifikant erhöht war [169]. Die Aussagekraft dieser Beobachtung ist allerdings durch die niedrige Fallzahl in der erwähnten Subgruppe (N=4) stark limitiert.

Mitunter zeigten sich in unseren Auswertungen Tendenzen, die trotz fehlender Signifikanz eine Bedeutung einzelner Faktoren für die endotheliale Funktion nahe legen.

So hatten beispielsweise unsere SSc Patienten, bei denen in der Echokardiographie eine LVEF $\geq 55\%$ gemessen wurde, tendenziell bessere FMD-Werte als jene Patienten mit reduzierter LVEF. In einer Arbeit der Referenzliteratur wurde außerdem beschrieben, dass FMD und Herzzeitvolumen bei Patienten mit SSc signifikant miteinander korrelieren [166], wobei die Beobachtung bei kleinem Stichprobenumfang (N=14) möglicherweise nicht repräsentativ ist. Obgleich es sich hier um zwei unterschiedliche Parameter handelt, kann dennoch festgehalten werden, dass beide Ergebnisse in eine ähnliche Richtung weisen und bei Patienten mit SSc ein Zusammenhang zwischen kardialer Leistung und endothelialer Funktion vermutet werden kann. Diese Annahme wird auch dadurch gestützt, dass bereits in anderen Studien eine Abnahme der endothelialen Funktion von Probanden mit zunehmender Herzinsuffizienz beschrieben wurde [129, 130].

Interessanterweise konnten wir in unserer Studienkohorte einen Trend zur Abnahme der Endothelfunktion mit zunehmender Hautsklerose beobachten. Es ist denkbar, dass eine vermehrte Hautsklerose auch mit vermehrt strukturellen Veränderungen im Bereich der Gefäße und einer reduzierten vaskulären Compliance einhergeht. Dies allein könnte über eine Minderung des Blutflusses und eine dadurch reduzierte Scherkraftwirkung zu einer herabgesetzten FMD führen. Andererseits ist aber auch denkbar, dass die maximale Dilatationsfähigkeit selbst durch die strukturelle Charakteristik des Gefäßes beeinflusst ist. Die von uns beobachtete inverse Korrelation von FMD und mRSS war auch nur sehr knapp statistisch nicht signifikant, was möglicherweise auf den Stichprobenumfang unserer Arbeit

zurückzuführen ist.

Inwiefern Hautfibrose und endotheliale Funktion miteinander assoziiert sind war auch eine Fragestellung drei weiterer Arbeitsgruppen [56, 166, 169]. Als Maß für die Hautbeteiligung fand ebenso wie bei uns der Rodnan-Score Anwendung. Dabei konnte keine dieser drei genannten Studien einen signifikanten Zusammenhang der beiden Parameter nachweisen. Obgleich auch unsere Ergebnisse das Signifikanzniveau knapp nicht erreichten, beobachteten wir, dass die Endothelfunktion unserer Patienten mit zunehmendem mRSS tendenziell abnahm. Hinsichtlich Studienaufbau und Patientenkohorte existierten allerdings zum Teil deutliche Unterschiede zwischen den zitierten Studien und unserer Arbeit. So war beispielsweise die Anzahl an SSc-Patienten in den Referenzstudien bedeutend kleiner (N=14 [166], N=24 [56], N=33 [169]), mitunter wurden ausschließlich Frauen untersucht [166] und der Anteil an Patienten mit dSSc war im Vergleich deutlich niedriger [56, 166] als bei uns. Darüber hinaus wurde in einer dieser drei Studien ein anderes Modell zur Bestimmung des mRSS verwendet [56]. Aufgrund der Vielzahl der genannten Differenzen ist daher ein direkter Vergleich der Ergebnisse mit den von uns vorgelegten Resultaten nur eingeschränkt möglich.

Unsere Vermutung, dass Erkrankungsaktivität und Endothelfunktion von Patienten mit SSc miteinander assoziiert sein könnten, ließ sich weder für die Gesamtkohorte noch für die Subgruppen lSSc oder dSSc bestätigen. Allerdings wiesen Patienten mit dSSc eine signifikant höhere Erkrankungsaktivität auf als Patienten mit lSSc.

Aufgrund der hohen Prävalenz pulmonaler Krankheitsmanifestationen bei SSc untersuchten wir ausführlich, ob sich zwischen endothelialer und pulmonaler Funktion wichtige Zusammenhänge aufzeigen ließen. Dabei stellten wir eine statistisch signifikante Korrelation zwischen FMD und Tiffeneau-Index in unserer SSc-Kohorte fest. Bezüglich der restlichen Lungenfunktionsparameter (FVC, FEV₁, TLC, DLCOc, KCO) fanden sich keine vergleichbaren Assoziationen.

Ein niedriger Tiffeneau-Index gilt allgemein als Hinweis für das Vorliegen einer obstruktiven Ventilationsstörung, und wird aus Einsekundenkapazität und forcierter Vitalkapazität berechnet. Liegt beispielsweise im Rahmen einer Lungenfibrose eine restriktive Ventilationsstörung vor, kann sich das unter anderem in einer reduzierten FVC äußern. In diesem Fall ist der Tiffeneau-Index nicht besonders aussagekräftig, da eine reduzierte FVC zu falsch hohen Werten führen kann. Die von uns beschriebene Korrelation zwischen FMD und FEV₁/FVC ist somit möglicherweise als Zufallssignifikanz einzustufen, der nicht notwendigerweise eine Kausalität zugrunde liegt. Der Zusammenhang zwischen Lungenfunktion und endothelialer Funktion wurde bisher nur in einer weiteren Studie untersucht, wobei sich auch hier keine deutlichen Assoziationen zwischen der FMD und einzelnen Parametern der Lungenfunktionsdiagnostik verzeichnen ließen [169]. Allerdings wurden in dieser Arbeit weniger SSc-Patienten untersucht (N=33) und eine geringere Anzahl an Lungenfunktionsparametern evaluiert (VC, DLCO), was den Vergleich der gefundenen Ergebnisse deutlich einschränkt.

Einige Arbeiten der Referenzliteratur konnten bisher weder für eine pulmonale Involvierung [164] noch für andere im Rahmen der SSc möglichen Organmanifestationen [162] deutliche Assoziationen zur Endothelfunktion bei dieser Patientengruppe nachweisen, was auch den Beobachtungen in unserer Studienkohorte entspricht. Demgegenüber stehen die Angaben von *Takahashi et al.* [169], die bei Patienten mit lcSSc und „verminderter“ FMD

(<3.7%) im Vergleich zu Patientn mit lcSSc und „normaler“ FMD (>3.7%) eine erhöhte Rate an digitalen Ulzerationen und auch eine signifikant erhöhte Prävalenz eines gesteigerten rechtsventrikulären systolischen Druckes (≥ 35 mmHg im TTE) beobachteten. Diese Aussage ist allerdings nur bedingt mit den von uns gemachten Angaben vergleichbar. So wählten wir einerseits einen anderen cut-off für die Einteilung von Patienten mit „guter“ (>6.5%), und Patienten mit „schlechter“ (<3.0%) FMD. Des Weiteren lag anhand der von uns gewählten Definition ein erhöhter rechtsventrikulärer systolischer Druck im TTE erst ab einem sPAP von >38mmHg vor. Letztendlich stützt sich die Aussage von *Takahashi et al.* auf sehr kleine Fallzahlen in den Untergruppen (lcSSc mit „reduzierter“ FMD: N=4; lcSSc mit „normaler“ FMD: N=10), weshalb die Schlussfolgerungen kritisch hinterfragt werden dürfen.

Zusätzlich zum klinischen Assessment bestimmten wir bei jedem Patienten ein ausführliches Standardlabor. Zwischen den von uns untersuchten Laborparametern und der endothelialen Funktion unserer Patienten konnten wir allerdings keine statistisch signifikanten Zusammenhänge beobachten. In der Referenzliteratur existieren hierzu widersprüchliche Angaben. So wurde beispielsweise in einer früheren Untersuchung ein signifikanter Zusammenhang zwischen Triglycerid-Level und Kreatinin-Clearance mit der FMD bei SSc-Patienten beschrieben [166]. Dies steht im Widerspruch zu den Erkenntnissen von zwei weiteren Arbeitsgruppen, die ebenso wie wir weder für sämtliche Lipid- als auch Entzündungsparameter wie CRP und BSG eine signifikante Assoziation zur Endothelfunktion nachweisen konnten [56, 165]. Eine mögliche Erklärung für diskrepante Ergebnisse könnten erneut die heterogenen Patientenkollektive sowie die geringeren Fallzahlen sein. Möglicherweise lassen sich die Abweichungen aber auch durch die Anwendung unterschiedlicher statistischer Analysemethoden erklären. So wurden in unserer und einer weiteren Studie, in denen kein signifikanter Zusammenhang beobachtet wurde, zur Untersuchung dieser Fragestellungen lediglich Univariatanalysen durchgeführt [56], während in den anderen zwei Studien Multivariatanalysen zur Anwendung kamen [165, 166].

Nach unserem besten Wissen waren wir die ersten, die einen möglichen Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und den Autoantikörpern anti-AT₁R, anti-ET_AR- und PAR1 bei Patienten mit SSc untersuchten. Entgegen unserer Erwartung konnten wir keine signifikante Korrelation zwischen FMD und den Titern der einzelnen AK nachweisen. Auch der Vergleich von Patienten beider Subtypen zeigte keine wesentlich verschiedenen Autoantikörperprofile. Diese Beobachtung ist mit Ergebnissen von *Riemekasten et al.* vergleichbar, die bei lSSc und dSSc ebenfalls keine signifikant unterschiedlichen Serumlevel für anti-AT₁R- und anti-ET_AR-AK fanden [38].

In der Literatur finden sich zwei Arbeiten, welche bereits der Frage nachgingen, ob die Endothelfunktion bei SSc mit dem Vorliegen bestimmter SSc-spezifischer AK assoziiert ist. Sowohl für ACA als auch anti-Scl70-AK konnte in beiden Studien diesbezüglich kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden [162, 164], was sich mit den von uns gemachten Beobachtungen deckt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Einflussfaktoren der Endothelfunktion in den einzelnen Studien sehr unterschiedlich gewertet wurden, und es ist wahrscheinlich, dass dies vor allem durch die Heterogenität der Studiengruppen, die unterschiedlichen Studiengrößen und die Unterschiede im klinischen Assessment bedingt ist.

Dabei konnten nicht alle der in der Vergangenheit durchgeführten Arbeiten, welche sich mit der Endothelfunktionsmessung mittels FMD der A. brachialis bei Patienten mit SSc

befassten, als Referenzliteratur berücksichtigt werden. Eine Arbeit wurde ausgeschlossen, da die im Abstract angegebenen Ergebnisse sowohl der FMD- als auch NMD-Messungen nicht mit den Ergebnissen des Artikels übereinstimmten und darüber hinaus die Messwerte im Artikel selbst nicht nachvollziehbar waren [181]. Drei weitere Studien waren in russisch publiziert, und konnten aufgrund der fehlenden Nachvollziehbarkeit der Angaben des Abstracts nicht als Referenzliteratur berücksichtigt werden [182–184].

4.2 Mögliche Ursachen diskrepanter Ergebnisse

4.2.1 Unterschiede von Kohortencharakteristika

Die von uns vorgestellten Ergebnisse wurden zuvor im Kontext mit den von der Referenzliteratur gemachten Angaben bewertet und verglichen. Dabei ist die Aussagekraft einzelner Vergleiche zum Teil sehr eingeschränkt, da mitunter erhebliche Unterschiede sowohl im Studiendesign als auch bezüglich Patientencharakteristika anzumerken sind.

In unserer Studie unterschieden wir anhand der Kriterien von *LeRoy et al.* [4] zwei Verlaufsformen der SSc und ordneten die Patienten den Subgruppen lSSc und dSSc zu, wobei die Fallzahlen beider Gruppen nahezu ausgeglichen waren. Der Anteil der weiblichen Probandinnen war etwa sechsfach höher als der der Männer.

Einige der Referenzstudien führten die FMD-Messung im Gegensatz zu uns ausschließlich bei Patienten mit dSSc durch [158–160, 165], eine Arbeit unterschied sogar drei Verlaufsformen der SSc [170]. Die übrigen der vorgestellten Studien untersuchten ebenso wie wir die Endothelfunktion bei lSSc und dSSc basierend auf den gleichen Klassifikationskriterien [56, 161–164, 166–169, 171, 172].

Die Untersuchung von sowohl Männern als auch Frauen erfolgte lediglich bei neun Studien [56, 161–164, 167, 168, 170, 171], andere Arbeitsgruppen führten die Messungen entweder ausschließlich bei weiblichen [158–160, 166, 169] oder männlichen SSc-Patienten [172] durch.

Eine zusätzliche Diskrepanz zu der von uns vorgelegten Arbeit bestand mitunter auch hinsichtlich des Ein- oder Ausschlusses von Patienten, bei denen kardiovaskuläre Risikofaktoren bekannt waren. Während wir in unserer Studie das Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren lediglich dokumentierten wurde in anderen Arbeiten beispielsweise das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie [161, 165, 172], eines Diabetes mellitus [162, 165–167, 170], einer Dys- und/ oder Hyperlipidämie [165–167, 170, 172], einer Adipositas [162] oder auch eines Nikotinabusus [162, 165, 167, 169–172] als Ausschlusskriterium definiert. In einer weiteren Studie wiederum führten einzelne Merkmale nur dann zum Studienausschluss (u.a. arterielle Hypertonie, Myokardinfarkt, Diabetes mellitus), wenn diese bereits vor Diagnose der SSc bekannt waren [163]. Immerhin sechs Studien untersuchten ebenso wie wir auch Patienten, bei denen kardiovaskuläre Risikofaktoren vorlagen [56, 158–160, 164, 168].

Das Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren führte in der vorliegenden Arbeit nicht zum Studienausschluss, weil fraglich war, ob diese mitunter nicht als mögliche Komplikation im Rahmen der SSc gewertet werden könnten. Allerdings kann ein kausaler Zusammenhang diesbezüglich nicht sicher beurteilt werden, da das Auftreten einzelner Manifestationen multifaktoriell bedingt sein kann.

Ein weiterer Unterschied im Studiendesign, durch den auch eine Beeinflussbarkeit der Messergebnisse denkbar ist, ergab sich durch den Umgang mit der aktuellen Medikation der Studienpatienten. In unserem Studienprotokoll wurden die Medikamente bis auf am Morgen direkt vor der FMD- und NMD-Messung regulär beibehalten. Aufgrund der Schwere der Erkrankung entschieden wir uns, wie zuvor auch in anderen Studien geschehen [56, 165, 166, 168, 169], gegen ein längerfristiges Aussetzen der Medikation vor Studienteilnahme.

Andere Arbeitsgruppen dagegen entschieden beispielsweise, Calciumantagonisten im Vorfeld der Endothelfunktionsmessung abzusetzen [167, 170, 172], und auch eine vor kurzem durchgeführte vasodilatorische [171] oder andauernde immunsuppressive Therapie [164] wurde mitunter als Ausschlusskriterium gewertet.

Neben den dargestellten Differenzen in Hinblick auf Geschlechterverteilung, Subgruppenanalysen/-klassifikationen, der Rolle kardiovaskulärer Risikofaktoren und dem Umgang mit der Medikation ergaben sich weitere, studienspezifische Unterschiede insbesondere bezüglich der Kohortencharakteristika, welche die Vergleichbarkeit der Studienergebnisse limitierten. Unter diesem Aspekt werden an dieser Stelle jene sechs Studien beurteilt, die die Endothelfunktion bei SSc ebenso wie wir auch in Hinblick auf klinische Manifestationen, funktionelle und/oder laborchemische Parameter evaluierten.

In einer dieser Arbeiten [169] hatten die Patienten zwar ein ähnliches Durchschnittsalter wie unsere Probanden, allerdings war die Studiengruppe deutlich kleiner ($N=33$), bei den Patienten bestanden keine kardiovaskulären Vorerkrankungen und die mittlere Erkrankungsdauer seit dem ersten Raynaud-Phänomen war deutlich länger. Zusätzlich waren die Gruppen lSSc und dSSc weiterhin unterteilt in Patienten mit „normaler“ oder „reduzierter“ FMD. Da die Prävalenzen einzelner klinischer Charakteristika für die somit entstandenen vier Subgruppen angegeben wurden und wir eine derartige Einteilung nicht vorgenommen hatten war ein detaillierterer Vergleich mit unseren Ergebnissen nicht möglich.

Eine andere Studie untersuchte neben der Endothelfunktion noch weitere hämodynamische Parameter bei Patienten mit SSc [166]. Auch hier war nicht nur die Kohortengröße ($N=14$) kleiner als bei uns, auch der Anteil an Patienten mit dSSc war deutlich geringer (28.6%). Darüber hinaus hatten die Patienten durchschnittlich einen etwas höheren mRSS, und im Gegensatz zu unseren Patienten keine nachweisbaren Einschränkungen der LVEF. Mittleres Alter und BMI der Patienten hingegen waren in beiden Gruppen ähnlich.

Unterschiede zeigten sich auch im Vergleich mit einer litauischen Arbeit [165]. Erneut war die Anzahl ($N=17$) der SSc-Patienten deutlich geringer, ferner waren die Patienten der Vergleichskohorte jünger, und, da das Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren als Ausschlusskriterium definiert war, möglicherweise auch „gesünder“ als unsere Probanden. Des Weiteren bestanden geringfügige Unterschiede bezüglich mittlerem BMI und CRP. Da außerdem in der Vergleichsstudie ausschließlich Patienten mit dSSc untersucht wurden lässt sich zusammenfassend festhalten, dass aufgrund der Vielzahl an Differenzen die Ergebnisse dieser Arbeit nur sehr eingeschränkt mit unseren vergleichbar sind.

Zahlreiche Übereinstimmungen hinsichtlich Patientencharakteristika und Studiendesign ergaben sich aus dem Vergleich mit einer italienischen Arbeit [164]. Hier waren sowohl mittleres Alter der Patienten als auch Erkrankungsdauer ähnlich wie in unserer Kohorte, der Anteil an Patienten mit lSSc hingegen war geringfügig höher. Die Prävalenz einer arteriellen Hypertonie fand sich ähnlich häufig wie in unserer Gruppe, der Anteil an Rauchern hingegen war bei uns geringer. Anamnestisch waren digitale Ulzerationen bei einem ähnlich

großen Anteil an Patienten bekannt wie in unserer Kohorte. Im Gegensatz zu der von uns vorgestellten Arbeit waren in der Referenzstudie Patienten, bei denen jemals ein kardio- oder zerebrovaskuläres Ereignis aufgetreten ist, von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Trotz der genannten Limitationen und der kleineren Fallzahl (N=35) an SSc-Patienten kann aufgrund der zahlreichen Übereinstimmungen dennoch davon ausgegangen werden, dass die vorgestellte Kohorte mit unserer vergleichbar ist.

Der Vergleich mit einer Studie von *Szücs et al.* [162] zeigte ebenfalls viele Gemeinsamkeiten. So war beispielsweise das Verhältnis von Frauen und Männern in beiden Studien ähnlich und ein Raynaud-Phänomen ähnlich häufig wie bei uns. Eine PAH oder eine Lungenfibrose fand sich in etwa doppelt so vielen Fällen, wobei wir für die Diagnose beider Erkrankungsmanifestationen insgesamt strengere Kriterien verwendeten. Die Prävalenzen einer gastrointestinalen oder auch renalen SSc-Beteiligung waren ähnlich wie in unserer Kohorte, digitale Ulzerationen wurden vergleichsweise häufiger angegeben. Zusammenfassend kann man aber davon ausgehen, dass auch diese Studienpopulation trotz der geringeren Patientenzahl (N=29) und den erwähnten Unterschieden für einen Vergleich mit der vorliegenden Kohorte geeignet ist.

Zuletzt sollen noch die Kohortencharakteristika einer Studie mit insgesamt 24 SSc-Patienten vergleichend vorgestellt werden [56]. Übereinstimmungen zeigten sich im Durchschnittsalter der Patienten, dem Verhältnis von männlichen und weiblichen Studienteilnehmern, der Prävalenz eines Raynaud-Phänomens sowie der Häufigkeit anamnestisch bekannter digitaler Ulzerationen. Die Medikation der Patienten wurde wie bei uns beibehalten. Unterschiede zeigten sich unter anderem im Anteil an Patienten mit dSSc, welcher in der Vergleichskohorte deutlich geringer war. Darüber hinaus wurden im Gegensatz zu unserem Protokoll keine Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme formuliert. Angaben zu mittlerer Erkrankungsdauer und mRSS konnten aufgrund unterschiedlicher Definitionen nicht miteinander verglichen werden.

Die SSc ist eine seltene Erkrankung mit einem ausgeprägt heterogenen klinischen Bild. Insbesondere bei kleineren Studien führen starke Unterschiede in den Patientenkohorten zu einer begrenzten Vergleichbarkeit der Studienergebnisse. Dieser Umstand ist vermutlich zu einem großen Teil dafür verantwortlich, dass unsere Resultate teilweise von den bei früheren Studien erhobenen Ergebnissen abweichen. Damit die Vielzahl der Differenzen weniger stark ins Gewicht fallen, wären insgesamt höhere Fallzahlen notwendig, welche bei der Seltenheit der Erkrankung an einem einzelnen Zentrum allerdings nur schwer zu erreichen sind. Wir haben mit immerhin 74 Patienten eine vergleichsweise hohe Anzahl an SSc-Erkrankten für die FMD-Messung rekrutieren können, weshalb wir davon ausgehen, dass unsere Ergebnisse im Vergleich zu kleineren Studien eine höhere Aussagekraft besitzen.

4.2.2 Unterschiede in der Methodik der FMD-Messung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bestimmung der FMD mittels Sonografie der A. brachialis anhand etablierter Guidelines von *Corretti et al.* [180] durch einen einzelnen Untersucher durchgeführt. Die Auswertungen der Ultraschallsequenzen erfolgte offline mit einer für die sonografische Endothelfunktionsmessung spezialisierten Software (Tom Tec Imaging Systems, Unterschleissheim, Deutschland) durch eine zweite, zu den Studienobjekten verblindete Person (vgl. Abschnitt 2.3).

An dieser Stelle soll nun ein methodischer Vergleich der FMD-Messung anhand der An-

gaben jener Studien erfolgen, welche die Endothelfunktion bei SSc auch in Hinblick auf klinische Parameter hin untersuchten [56, 162, 164–166, 169]. Unterschiede in der methodischen Durchführung setzen die Vergleichbarkeit der Daten herab und könnten mitunter für abweichende Beobachtungen verantwortlich sein.

Zwei dieser Arbeiten [162, 165] verwendeten die gleichen Richtlinien wie wir, drei Studien [56, 164, 166] führten die Messungen anhand der Vorgaben von *Celermajer et al.* [98] durch, und in einer Arbeit [169] wurden keine weiteren Angaben über die zugrunde liegenden Guidelines gemacht.

Ebenso wie bei uns wurde die FMD-Messung in einer weiteren Studie [162] durch nur einen einzelnen Untersucher durchgeführt, in einer anderen Arbeit [166] erfolgte dies durch zwei Personen. In den restlichen Studien wurden zu diesem Thema keine Angaben gemacht [56, 164, 165, 169].

Die Platzierung der Stauungsmanschette erfolgte bei uns und in zwei der Referenzarbeiten [56, 162] am Unterarm der Studienpatienten distal der Messebene, bei den Patienten einer weiteren Studie wurde sie hingegen oberhalb des geschnittenen Bereiches am Oberarm angebracht [166]. Keine Angaben über die Position der Blutstauungsmanschette machten die Autoren der verbliebenen drei Arbeiten [164, 165, 169]. Es ist bekannt, dass die Platzierung der Stauungsmanschette am Oberarm zu deutlich höheren FMD-Werten führt [185, 186], und es wird davon ausgegangen, dass in diesem Fall die Vasodilatation nur noch partiell NO-abhängig ist, die wesentlich größere Komponente möglicherweise aber durch eine myogene Reaktion infolge der Gewebeischämie zustande kommt [185]. Dieser Mechanismus wäre beispielsweise eine Erklärung für die deutlich höheren FMD-Werte in der Studie von *Rossi et al.* [166] (vgl. Tabelle 2).

Sowohl wir als auch die Mehrzahl der Vergleichsstudien [164–166, 169] führten eine fünfminütige Stauung des Blutflusses durch, bei den zwei übrigen Arbeiten [56, 162] betrug dieses Zeitintervall hingegen nur jeweils viereinhalb Minuten. Die Verkürzung des Ischämieintervalls könnte wiederum zu verminderten FMD-Werten geführt haben, da die Gefäßdilatation infolge eines verlängerten Ischämie stimulus größer ausfällt [100].

Die Beobachtung des Gefäßdiameters zur Bestimmung der FMD erfolgte in der vorliegenden Arbeit für insgesamt vier Minuten nach Beendigung der Blutstauung, die Auswertung der Bildsequenzen erfolgte wie zuvor unter Abschnitt 2.3.4 beschrieben. In der Referenzliteratur war mitunter der Ablauf identisch aber der Beobachtungszeitraum nach Manschettenlösung kürzer [56, 162, 169], oder aber die FMD wurde 45–60 Sekunden nach Stauungslösung ermittelt [164, 166]. *Cypiene et al.* [165] führten die Scans für insgesamt drei Minuten nach Stauungsbeendigung durch, bestimmten die Gefäßweite allerdings zwischen anteriorer und posteriorer Intima-Lumen Grenzfläche anstatt anteriorer und posteriorer Endothelschicht. Letzteres könnte zu insgesamt höheren FMD-Werten geführt haben, und auch die unterschiedlichen und teilweise viel kürzeren Beobachtungszeiträume reduzieren die Vergleichbarkeit der Messdaten. Studien haben gezeigt, dass die nach 60 Sekunden gemessene FMD mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Unterschätzung der tatsächlichen FMD führt, da der Peak der Gefäßdilatation durchaus auch später auftreten kann, weshalb nach neueren Guidelines ein Beobachtungszeitraum von mindestens 180 Sekunden empfohlen wird [93].

Unterschiede zwischen den einzelnen Studien ergaben sich auch hinsichtlich der Auswertung der Ultraschallmessungen. Diese wurden in einigen Arbeiten der Referenzliteratur teilweise ebenfalls offline und manuell durchgeführt, jedoch fehlten mitunter Angaben zur Anzahl der auswertenden Personen sowie ihr Bezug zu den Studienteilnehmern [56], oder

die Auswertungen wurden durch zwei verblindete Personen durchgeführt [166]. Eine weitere Studie evaluierte die FMD bereits mittels einer semi-automatischen Software [165]. Die übrigen drei Studien machten keine Angaben über den Auswertungsmodus [162, 164, 169].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bezüglich der Methodik der sonografischen FMD-Bestimmung mitunter deutliche Unterschiede zwischen den Studienprotokollen zu verzeichnen sind. Die aufgeführten Unterschiede limitieren die Vergleichbarkeit der einzelnen Ergebnisse, und tragen möglicherweise auch zu widersprüchlichen Funden bei.

4.2.3 Allgemeiner Literaturvergleich der Patientenkohorte

Es wurde bereits darauf eingegangen, dass die SSc eine sehr heterogene Erkrankung darstellt, und ein Vergleich verschiedener FMD-Studien auch durch unterschiedliche Kohortencharakteristika limitiert ist. Die Anzahl der Patientin mit SSc, bei denen wir eine FMD-Messung durchführten, übertraf die Kohortengrößen der Referenzliteratur. Nichtsdestotrotz muss genau überprüft werden, ob unsere Studiengruppe als repräsentativ gewertet werden kann. Dies soll anhand eines Vergleiches mit Daten epidemiologischer Studien von großen SSc-Kohorten geschehen.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Probanden anhand der Kriterien von *LeRoy et al.* [4] in die Subgruppen lSSc und dSSc eingeteilt. Die Gruppengrößen waren dabei nahezu identisch. Grundsätzlich wird in der Literatur aber davon ausgegangen, dass die Prävalenz der ISSc (58.5% [77], 66.2% [8], 62.1% [5]) insgesamt höher ist als die der dSSc (37.1% [77], 33.8% [8], 18.7% [5]).

Die Mehrheit unserer Patienten wurde aus dem stationären beziehungsweise teilstationären Bereich der Klinik rekrutiert (vgl. Abschnitt 3.1.1), wo der Anteil an Patienten mit dSSc relativ hoch war. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass bei dieser Patientengruppe vergleichsweise vermehrt Beteiligungen innerer Organe auftreten [17, 77], beziehungsweise eine Reihe an Therapien dieser Komplikationen nur unter stationären Bedingungen durchgeführt werden (z.B. Cyclophosphamid-Infusionstherapie bei Lungenfibrose). Das Verhältnis von Frauen und Männern in unserer Patientenkohorte lag bei 5.7:1.0 und entspricht in etwa dem in der Literatur angegebenen Geschlechterverhältnis bei SSc ([8],[12]).

Ein Vergleich einzelner Erkrankungsmanifestationen mit denen der in der Literatur vorgestellten SSc-Kohorten wird durch die Anwendung uneinheitlicher Definitionskriterien bezüglich SSc-Subtypen-Klassifikation und einzelner Erkrankungsmanifestationen erschwert. Die Definitionskriterien der Erkrankungsmanifestationen in der vorliegenden Studie wurden in Anlehnung an Empfehlungen des DNSS und der EUSTAR erstellt.

An dieser Stelle soll ein Vergleich der Krankheitsausprägungen in unserer Kohorte mit den Angaben von drei großen epidemiologischen Studien aus dem europäischen Raum erfolgen (vgl. Tabelle 15).

In einem 2012 vorgestellten Bericht der EUSTAR von *Meier et al.* werden die Erkrankungsprofile von insgesamt 7655 Patienten mit SSc (davon 2838 mit dcSSc und 4481 mit lcSSc) aus 174 Zentren ausgewertet, deren Daten in einem Zeitraum von 2004-2011 zusammengetragen wurden [77]. Eine detaillierte Übersicht über klinische und immunologische Charakteristika von 916 spanischen SSc-Patienten bietet die Arbeit von *Siméon-Aznar* und

Kollegen [187]. In einer weiteren Studie von *Hunzelmann et al.* werden die Charakteristika einer deutschen SSc-Kohorte vorgestellt [75]. Die Autoren führten im Zeitraum von 2003-2007 eine Erhebung klinischer Daten von insgesamt 1483 SSc-Patienten aus 27 deutschen Zentren anhand eines Fragebogens des DNSS durch.

Bei der Prüfung der Daten fällt auf, dass die Prävalenz der Lungenfibrose in den drei Vergleichsstudien jeweils deutlich höher angegeben wurde als in unserer Kohorte. Diese geringere Prävalenz könnte durch die von uns verwendeten vergleichsweise strengen Definitionskriterien (radiologischer Nachweis *und* $FVC < 80\%$) verursacht sein. In den genannten Referenzstudien wurde die Diagnose bereits allein bei einer auffälligen Bildgebung (bibasale Lungenfibrose im Thoraxröntgen oder HR-CT) [77], alternativ anhand restriktiver Veränderungen in der Lungenfunktion ($TLC < 80\%$) oder radiologischen Kriterien [75] oder bei Vorliegen eines der drei Kriterien radiologischer Nachweis, $FVC < 80\%$ *oder* Nachweis einer Alveolitis [187], gestellt.

Auch die Angaben zum Vorliegen einer kardialen Beteiligung der SSc variieren zwischen den einzelnen Studien. Mitunter wurde bereits beim Auftreten von Palpitationen, dem Nachweis von Leitungsstörungen oder bei Vorliegen einer diastolischen Dysfunktion von einer kardialen SSc-Manifestation ausgegangen [75]. In der Arbeit von *Siméon-Aznar et al.* wurde die Prävalenz einer Herzbeteiligung im Vergleich zu unseren Angaben als deutlich höher eingeschätzt, und bereits bei einem von acht möglichen Kriterien (z.B. positiver Anamnese einer ischämischen Kardiopathie oder bei EKG-Alterationen unbekannter Ursache) dokumentiert [187]. Die sichere Diagnose einer kardialen SSc-Beteiligung ist nach wie vor nur durch den histologischen Nachweis möglich. Da die Durchführung der hierfür notwendigen Biopsie im Rahmen der Routinediagnostik ungeeignet ist, werden zu Studienzwecken für die Beurteilung einer kardialen Involvierung vor allem non-invasive Untersuchungsparameter genutzt. Dies allerdings führt zu erheblichen Einschränkungen, da eine Reihe kardialer Pathologien multifaktoriell bedingt sein können (z.B. Perikarditis, EKG-Alterationen) oder auch als relativer „Normalbefund“ im höheren Alter interpretierbar sind (z.B. diastolische Dysfunktion). Aus diesem Grund entschieden wir wie unter Abschnitt 2.2.3 beschrieben, dass mindestens zwei Kriterien erfüllt sein müssen, damit bei unseren Patienten von einer Herzbeteiligung im Rahmen der SSc auszugehen ist. Daten von Autopsie-Studien bei SSc-Patienten legen allerdings nahe, dass die tatsächliche Prävalenz einer kardialen SSc-Beteiligung wahrscheinlich viel höher ist als in der Literatur angegeben [188].

In den drei Referenzarbeiten sind die Angaben zur Prävalenz digitaler Ulzerationen bei Patienten mit SSc ähnlich hoch wie in unserer Kohorte, und ebenso scheinen Patienten mit dSSc von dieser Erkrankungsmanifestation häufiger betroffen zu sein als Patienten mit lSSc.

Bezüglich gastrointestinaler Beteiligung und Ösophagusfunktionsstörung fanden sich in unserer ebenso wie in der spanischen Studie [187], die diese Aspekte in ähnlicher Weise wie wir untersuchte, keine wesentlichen Unterschiede zwischen lSSc und dSSc.

Unterschiede ergaben sich allerdings hinsichtlich der Beurteilung der gastrointestinalen Beteiligung, welche bei uns vorrangig symptomorientiert und in der Vergleichsarbeit hauptsächlich anhand radiologischer Kriterien beziehungsweise interventioneller Verfahren (Endoskopie, Manometrie) erfolgte.

Durch die dargestellten Differenzen im Assessment der Erkrankungsmanifestationen sind unterschiedliche Prävalenzen einzelner Organbeteiligungen erklärbar. Außerdem ist die eigene SSc-Kohorte mit $N=74$ im Vergleich zu den vorgestellten SSc-Kohorten mit $N=7655$

[77], N=916 [187] und N=1483 [75] sehr viel kleiner, was auch zu Abweichungen führen kann. Zusätzlich muss bedacht werden, dass die Einnahme von Medikamenten in unserer Studienkohorte möglicherweise einen Einfluss auf einzelne Erkrankungsausprägungen beziehungsweise ihre Schwere ausübte.

Zusammenfassend kann aber festgehalten werden, dass sich trotz der genannten Unterschiede viele Übereinstimmungen zwischen dem vorliegenden Patientenkollektiv und den Charakteristika der vorgestellten SSc-Kohorten aus dem europäischen Raum finden ließen und unsere Kohorte somit als repräsentativ gewertet werden kann.

Tabelle 15: Allgemeiner Literaturvergleich

	Anteil von Symptomen/Organmanifestationen in %											
	SSc gesamt				ISSc				dSSc			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Raynaud-Phänomen	96.3	83.6	94.4	97.3	96.6	86.1	96.3	94.9	96.1	72.7	94.2	100.0
Digitale Ulzerationen	36.0	43.2	24.4	36.5	32.7	39.0	23.8	25.6	42.4	63.8	34.4	48.6
Lungenfibrose	39.5	47.5*	34.5	16.2	31.3	39.3	20.8	2.6	52.0	70.0	56.1	31.4
PAH	21.1	k.A.	15.8	17.6	20.7	16.2	14.9	18.2	22.1	21.8	18.5	17.1
Kardiale Beteiligung	k.A.	k.A.	14.6	12.9	k.A.	31.1	12.0	7.1	k.A.	32.5	23.0	5.7
Gastrointestinale Beteiligung	k.A.	k.A.	k.A.	74.0	k.A.	69.8	k.A.	76.3	k.A.	80.2	k.A.	71.4
muskuloskeletale Beteiligung	k.A.	k.A.	47.5	65.8	k.A.	56.6	44.9	51.3	k.A.	63.4	56.6	82.4
Ösophagusbeteiligung	67.3	k.A.	60	87.5	66.4	57.3	59.2	80.0	69.5	71.2	69.3	95.0
SRC	2.1	k.A.	k.A.	2.7	1.0	0.7	k.A.	2.6	4.0	7.8	k.A.	2.9
-Proteinurie	6.1	k.A.	9.5	8.2	4.4	k.A.	8.9	0.0	8.4	k.A.	15.2	17.1
mRSS	8 [4-15]	k.A.	9.2±9.2	8 [4-14]	6 [4-10]	k.A.	6.9±6.2	4 [3-8]	16 [10-24]	k.A.	15.2±10.9	15 [9-19]

Erkrankungsmanifestationen bei SSc-Kohorten von drei großen epidemiologischen Studien I) *Meier et al.* mit N=7655 [77], II) *Siméon-Aznar et al.* mit N=916 [187] und III) *Hunzelmann et al.* mit N=1483 [75] im Vergleich zu der IV) vorliegenden Studienpopulation mit N=74. * ermittelt anhand vorliegender Daten. SSc: systemische Sklerose; ISSc: limitiert kutane SSc; dSSc: diffus kutane SSc; PAH: pulmonal arterielle Hypertonie; SRC: Scleroderma renal crisis; mRSS modifizierter Rodnan Skin Score.

4.3 Limitationen der Studie

Die vorliegende Studie hat einige Tendenzen aufzeigen können, die bei Patienten mit Scc für bestimmte Erkrankungsmerkmale eine Assoziation mit der FMD dieser Personen vermuten lässt. Allerdings existieren einige Faktoren, welche die Aussagekraft unserer Ergebnisse einschränken und deshalb kritisch hinterfragt werden müssen.

So war unsere Studie unter anderem durch die statistisch betrachtet geringe Stichprobengröße limitiert.

Auch wenn unsere Kohortengröße im Vergleich mit der Referenzliteratur recht hoch ausfiel, war sie wahrscheinlich doch zu gering, um statistisch signifikante Ergebnisse aufzuzeigen. Sowohl die geringe Prävalenz der Erkrankung als auch die technischen Anforderungen (u.a. zeitaufwändige Messmethode, nur ein trainierter Untersucher) hatten maßgeblichen Einfluss auf die limitierte Studiengröße. Des Weiteren ist es sehr schwierig, bei einem derart vielfältigen Erkrankungsbild ein homogenes Studienkollektiv zu bilden.

Es ist bekannt, dass bereits das Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren mit einer eingeschränkten Endothelfunktion assoziiert ist (vgl. Abschnitt 1.2.3). Bei unseren Untersuchungen von Zusammenhängen zwischen endothelialer Funktion und klinischen Erkrankungsparametern der SSc könnte der Einschluss von Patienten mit multiplen kardiovaskulären Risikofaktoren in das Studienkollektiv einen starken Einfluss auf unsere Ergebnisse gehabt haben, wenngleich für die Faktoren im Einzelnen keine signifikanten Assoziationen mit der FMD nachweisbar waren.

Der Ausschluss von Patienten mit aktiven digitalen Ulzerationen in unserer Arbeit könnte darüber hinaus dazu geführt haben, dass wir hier eine Gruppe von Patienten von der Untersuchung ausgenommen haben, die möglicherweise eine deutlich veränderte endotheliale Funktion haben. Inwiefern dadurch ein möglicherweise doch vorhandener Zusammenhang zwischen diesem mikrovaskulären Krankheitsbild und der endothelialen Funktion verdeckt wurde, ist schwer einzuschätzen.

Einzelne Parameter des klinischen Assessments, insbesondere die Erhebung des mRSS und des EUSTAR-Aktivitätsscores, könnten durch die sehr subjektive Wahrnehmung sowohl des Untersuchers (Evaluation der Hautdicke) als auch durch die Patienten (z.B. Beurteilung einer Verschlechterung pulmonaler/kardialer Erkrankungsmanifestationen) verfälscht sein. Dabei sind die von uns ermittelten Aktivitätsscores mit einer wichtigen Einschränkung zu betrachten: Durch den vorherigen Ausschluss von Patienten mit aktiven digitalen Ulzerationen (vgl. Abschnitt 2.1.1) sind die Absolutwerte beispielsweise nicht mit denen anderer SSc-Kohorten zu vergleichen, da das Vorliegen aktiver Ulzerationen/digitaler Nekrosen als eigenständiges Item mit 0.5 Punkten in den EUSTAR Aktivitätsscore einhergeht [178, 179]. Wie bereits an anderer Stelle erwähnt, war es für uns aus ethischer Sicht nicht vertretbar, diesen Patienten bei akuter Beschwerdesymptomatik (v.a. schmerzhafte Nekrosen) eine Ischämiephase von fünf Minuten zuzumuten.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Datenerhebung über einen Zeitraum von neun Monaten, Anfang Februar bis Ende Oktober 2011. Obgleich die Messungen in einem kontrolliert temperierten Raum unter standardisierten Bedingungen durchgeführt wurden, ist

es denkbar, dass die jahreszeitlichen Temperaturschwankungen einen möglichen Einfluss auf die FMD-Werte hatten. Diese Überlegung liegt insbesondere bei jenen Patienten nahe, welche unter einer ausgeprägten Raynaud-Symptomatik litten. Da Häufigkeit und Schwere von RP-Attacken in kälteren Jahreszeiten ausgeprägter sind, könnte bei den betroffenen Patienten möglicherweise auch die FMD jahreszeitlich bedingt variieren.

Bei unseren weiblichen Studienteilnehmerinnen gab es sowohl Frauen in der Prämenopause als auch Frauen in der postmenopausalen Phase. Die FMD kann auch im Rahmen des Menstruationszyklus variieren, ferner treten bei Frauen mit SSc häufig irreguläre Menstruationszyklen auf [189]. Da wir die terminliche Koordinierung der FMD-Messung vorrangig an den Bedürfnissen unserer Studienteilnehmer orientierten, und wir die Untersuchung häufig mit geplanten stationären oder teilstationären Aufenthalten kombinierten, konnten wir in unserer Studie die zyklusabhängigen FMD-Schwankungen leider nicht berücksichtigen.

In unserem Studienprotokoll war es für uns wie zuvor erwähnt aus ethischer Sicht nicht vertretbar, die medikamentöse Therapie unserer Studienteilnehmer zu unterbrechen. Einige Medikamente, darunter Statine und ACE-Inhibitoren, können jedoch zu einer direkten Veränderung beziehungsweise Verbesserung der Endothelfunktion führen [190–192]. Auch Calcium-Kanal-Inhibitoren beeinflussen die Interaktion von zirkulierenden vasoaktiven Mediatoren und der Gefäßmuskulatur. Ebenso ist durch die langfristige Einnahme von Kortikosteroiden und Immunsuppressiva die Hemmung einzelner Krankheitsprozesse, u.a. auch der vaskulären Veränderungen wie beispielsweise einer obliterativen Vaskulopathie und Intimafibrose, denkbar. Die Weiterführung der medikamentösen Therapie bei unseren Studienteilnehmern könnte theoretisch zu einer verbesserten scherkraftinduzierten Vasodilatation und einer somit verbesserten endothelvermittelten Vasodilatation geführt haben. Die Beibehaltung der Medikation ist somit als wichtiger Confounder einzuordnen, der mit hoher Wahrscheinlichkeit unsere Studienergebnisse beeinflusst hat.

Auch die Messung der Endothelfunktion mittels FMD der A.brachialis ist anfällig für Fehler. Wiederholte Messungen bei ein und demselben Probanden weisen eine hohe Variabilität der ermittelten FMD-Werte auf, was wahrscheinlich sowohl auf biologische Faktoren des Untersuchten als auch auf Messungenauigkeiten des Untersuchers zurückzuführen ist [193]. Eine lediglich einmalig durchgeführte FMD-Messung, wie in der vorliegenden Studie geschehen, ist somit mit einem größeren Fehler verbunden. Darüber hinaus stellt die von uns durchgeführte manuelle Auswertung des Gefäßdiameters durch eine zweite, zu den Studienobjekten verblindete Person, eine mögliche Fehlerquelle dar. Dabei variiert vermutlich besonders die Identifizierung des Endothels und die exakte Messung von anteriorer zu posteriorer Gefäßwand. Für weitere Studien wären wiederholte Messungen und automatische oder semi-automatische Auswertungen der Untersuchungssequenzen sinnvoll, um die Messergebnisse zu objektivieren.

4.4 Schlussfolgerung und Ausblick

Patienten mit SSc bieten ein sehr heterogenes Bild unterschiedlichster Erkrankungsmanifestationen. Ein pathologisches Charakteristikum der SSc ist dabei die Vaskulopathie, die durch verschiedene Krankheitsmanifestationen wie beispielsweise einer pulmonalarteriellen Hypertonie, renalen Krisen oder akralen Durchblutungsstörungen in Erscheinung treten

kann.

Allerdings stehen derzeit kaum Parameter zur Verfügung, die eine zuverlässige Identifikation des Krankheitsverlaufes oder deren Manifestationen zulassen. Im Rahmen dieser Studie sollte untersucht werden, ob die Messung der Endothelfunktion mittels Ultraschall Hinweise für das Erscheinungsbild der Erkrankung bieten kann.

In vorangegangenen Arbeiten wurde bereits gezeigt, dass bei Patienten mit SSc eine Störung der Endothelfunktion vorliegt, deren Bedeutung hinsichtlich klinischer Manifestationen bisher unterschiedlich bewertet wurde. Ob eine Störung der Endothelfunktion bei SSc auch mit der Krankheitsaktivität assoziiert ist, oder ein Zusammenhang mit Autoantikörpern gegen vaskuläre Rezeptoren besteht, wollten wir nun zusätzlich prüfen.

Zu diesem Zweck haben wir die Endothelfunktion zusammen mit einem umfangreichen Erkrankungsassessment bei einer vergleichsweise großen Kohorte von insgesamt 74 SSc-Patienten untersucht.

Dabei stellte sich heraus, dass bei Patienten mit SSc unabhängig von der Verlaufsform der Erkrankung (ISSc oder dSSc) im gleichen Maße eine endotheliale Dysfunktion (Median FMD von 4.4%) besteht, und diese mit zunehmendem Alter, genau wie bei Gesunden, voranschreitet. Unser Ergebnis unterstützt somit die Aussage, dass die Vaskulopathie ein wesentliches Charakteristikum der SSc ist.

Wir haben Hinweise darauf gefunden, dass mit zunehmendem modifizierten Rodnan Skin Score auch eine progrediente Einschränkung der endothelialen Funktion zu bestehen scheint. Wenngleich diese Beobachtung nicht signifikant war, ist doch vorstellbar, dass eine ausgeprägte Hautfibrose mit strukturellen Gefäßveränderungen und erniedrigter vaskulärer Compliance einhergeht, welche über einer Reduktion von Blutfluss und Scherkraftwirkung in einer verminderten FMD resultiert.

Anders als bei gesunden Probanden konnten wir keinen Zusammenhang zwischen FMD und einzelnen kardiovaskulären Risikofaktoren bei Patienten mit SSc nachweisen. Dies kann möglicherweise daran liegen, dass bei der SSc andere Faktoren, zum Beispiel struktureller oder inflammatorischer Genese, einzeln oder in Kombination, eine wesentlich größere Assoziation zur Endothelfunktion aufweisen.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit war, Endothelfunktion und Erkrankungsaktivität bei SSc (in Anlehnung an die Kriterien der EUSTAR [178, 179]) zu beurteilen. Dabei ließ sich weder in der Gesamtkohorte noch in der Einzelbetrachtung von ISSc oder dSSc ein Zusammenhang zwischen Aktivitätsscore und FMD-Werten nachweisen. Eine mögliche Interpretation dieses Ergebnisses wäre, dass die endotheliale Dysfunktion unabhängig von der aktuellen Aktivität der Krankheit kontinuierlich voranschreitet. Demgegenüber steht jedoch, dass wir ebenso wie die Mehrzahl der vorangegangenen Studien keine Assoziation zwischen Erkrankungsdauer und Endothelfunktion nachweisen konnten. Vielleicht, weil bei der SSc auch nicht notwendigerweise von einem linearen Zusammenhang zwischen Dauer und Schwere der Erkrankung ausgegangen werden kann.

Bezogen auf eine unserer zentralen Fragestellungen kann an dieser Stelle festgehalten werden, dass weder in der Gesamtkohorte noch in der Einzelbetrachtung von ISSc oder dSSc ein signifikanter Zusammenhang zwischen Endothelfunktion und klinisch manifesten vaskulopathischen Erkrankungen zu beobachten war.

Zusätzlich untersuchten wir den Zusammenhang zwischen endothelialer Funktion und anti-AT₁R-, anti-ET_AR- und PAR1-Autoantikörpern in unserer Patientenkohorte. Dabei konnten wir keine signifikante Korrelation zwischen FMD und den Titern der einzelnen AK nachweisen. Der Vergleich von ISSc und dSSc zeigte keine wesentlich verschiedenen Autoantikörperprofile, allerdings eine deutliche Korrelation der AK untereinander, was im

Wesentlichen den Beobachtungen von *Riemekasten et al.* entspricht, [38].

Zusammenfassend betrachtet wären hier prospektive Studien aufschlussreich, in denen der Verlauf von endothelialer Funktion, Autoantikörpertitern und klinischen Erkrankungsmanifestationen über einen größeren Zeitraum untersucht werden würde.

Die Endothelfunktion kann mittels hochauflösendem Ultraschall und FMD-Messung zuverlässig, sensitiv und nicht invasiv untersucht werden. Der zeitliche und apparative Aufwand macht die FMD-Messung allerdings für die klinische Routinediagnostik eher ungeeignet. Es ist aber denkbar, dass sie sich als diagnostischer Marker in der Beurteilung von Patienten aus Risikokollektiven – wie im Falle der SSc – zunehmend etablieren könnte.

Ein Ansatz zukünftiger Arbeiten auf diesem Gebiet könnte darin bestehen, die Dynamik der endothelialen Funktion im Krankheitsverlauf der SSc und als prognostischen Marker zu evaluieren. So könnte man klären, ob sich verschlechternde FMD-Werte mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten schwerer Erkrankungsmanifestationen, beispielsweise einer PAH oder digitaler Ulzerationen, einhergehen. Gleichzeitig wäre interessant, ob gleichbleibende FMD-Werte Hinweise für einen stabileren Erkrankungsverlauf geben.

Darüber hinaus kann, wie bereits vereinzelt in vorausgegangenen Studien [163, 171], die Endothelfunktionsmessung zur Evaluation therapeutischer Optionen angewandt werden. Gegenwärtig erhalten beispielsweise viele Patienten, welche an einem ausgeprägten Raynaud-Phänomen oder digitalen Ulzerationen leiden, vasodilatorische Infusionstherapien mit Prostaglandin-Analoga (z.B. Ilomedin®). Randomisierte prospektive Studien könnten klären, ob auch die endotheliale Funktion mittel- oder langfristig dadurch beeinflusst oder gegebenenfalls sogar verbessert wird.

Literaturverzeichnis

- [1] MASI, AT: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). In: *Arthritis & Rheumatism* 23 (1980), Nr. 5, S. 581–590
- [2] GIORDANO, M ; VALENTINI, G ; MIGLIARESI, S ; PICILLO, U ; VATTI, M: Different antibody patterns and different prognoses in patients with scleroderma with various extent of skin sclerosis. In: *J Rheumatol* 13 (1986), Nr. 5, S. 911–916
- [3] BARNETT, AJ: Scleroderma (progressive systemic sclerosis): progress and course based on a personal series of 118 cases. In: *The Medical journal of Australia* 2 (1978), Nr. 4, S. 129
- [4] LEROY, EC ; BLACK, CM ; FLEISCHMAJER, R ; JABLONSKA, S ; KRIEG, T ; MEDSGER, TAJr. ; ROWELL, N ; WOLLHEIM, F: Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. In: *The Journal of Rheumatology* 15 (1988), Nr. 2, S. 202
- [5] LO MONACO, A ; BRUSCHI, M ; LA CORTE, R ; VOLPINARI, S ; TROTTA, F: Epidemiology of systemic sclerosis in a district of northern Italy. In: *Clin Exp Rheumatol* 29 (2011), Nr. 2 Suppl 65, S. S10–S14
- [6] ROSA, JE ; SORIANO, ER ; NARVAEZ-PONCE, L ; DEL CID, CC ; IMAMURA, PM ; CATOGGIO, LJ: Incidence and prevalence of systemic sclerosis in a healthcare plan in Buenos Aires. In: *J Clin Rheumatol* 17 (2011), Nr. 2, S. 59–63
- [7] MINZ, RW ; KUMAR, Y ; ANAND, S ; SINGH, S ; BAMBERI, P ; VERMA, S ; SHEGAL, S: Antinuclear antibody positive autoimmune disorders in North India: an appraisal. In: *Rheumatol Int* 32 (2012), Nr. 9, S. 2883–2888
- [8] MAYES, MD ; LACEY, JVJr. ; BEEBE-DIMMER, J ; GILLESPIE, BW ; COOPER, B ; LAING, TJ ; SCHOTTENFELD, D: Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. In: *Arthritis Rheum* 48 (2003), Nr. 8, S. 2246–2255
- [9] BARNES, J ; MAYES, MD: Epidemiology of systemic sclerosis: incidence, prevalence, survival, risk factors, malignancy, and environmental triggers. In: *Curr Opin Rheumatol* 24 (2012), Nr. 2, S. 165–170
- [10] ARNETT, FC ; HOWARD, RF ; TAN, F ; MOULDS, JM ; BIAS, WB ; DURBAN, E ; CAMERON, HD ; PAXTON, G ; HODGE, TJ ; WEATHERS, PE ; REVEILLE, JD: Increased prevalence of systemic sclerosis in a Native American tribe in Oklahoma. Association with an Amerindian HLA haplotype. In: *Arthritis Rheum* 39 (1996), Nr. 8, S. 1362–1370

- [11] MAYES, MD: Scleroderma epidemiology. In: *Rheum Dis Clin North Am* 29 (2003), Nr. 2, S. 239–254
- [12] LAWRENCE, RC ; HELMICK, CG ; ARNETT, FC ; DEYO, RA ; FELSON, DT ; GIANINI, EH ; HEYSE, SP ; HIRSCH, R ; HOCHBERG, MC ; HUNDER, GG ; LIANG, MH ; PILLEMER, SR ; STEEN, VD ; WOLFE, F: Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States. In: *Arthritis Rheum* 41 (1998), Nr. 5, S. 778–799
- [13] ARNETT, FC ; CHO, M ; CHATTERJEE, S ; AGUILAR, MB ; REVEILLE, JD ; MAYES, MD: Familial occurrence frequencies and relative risks for systemic sclerosis (scleroderma) in three United States cohorts. In: *Arthritis Rheum* 44 (2001), Nr. 6, S. 1359–1362
- [14] IOANNIDIS, JP ; VLACHOYIANNPOULOS, PG ; HAIDICH, AB ; MEDSGER, TAJr. ; LUCAS, M ; MICHET, CJ ; KUWANA, M ; YASUOKA, H ; VAN DEN HOOGEN, F ; TE BOOME, L ; VAN LAAR, JM ; VERBEET, NL ; MATUCCI-CERINIC, M ; GEORGOUNTZOS, A ; MOUTSOPOULOS, HM: Mortality in systemic sclerosis: an international meta-analysis of individual patient data. In: *Am J Med* 118 (2005), Nr. 1, S. 2–10
- [15] BRYAN, C ; KNIGHT, C ; BLACK, CM ; SILMAN, AJ: Prediction of five-year survival following presentation with scleroderma: development of a simple model using three disease factors at first visit. In: *Arthritis Rheum* 42 (1999), Nr. 12, S. 2660–2665
- [16] CLEMENTS, PJ ; LACHENBRUCH, PA ; NG, SC ; SIMMONS, M ; STERZ, M ; FURST, DE: Skin score. A semiquantitative measure of cutaneous involvement that improves prediction of prognosis in systemic sclerosis. In: *Arthritis Rheum* 33 (1990), Nr. 8, S. 1256–1263
- [17] SCUSSEL-LONZETTI, L ; JOYAL, F ; RAYNAULD, JP ; ROUSSIN, A ; RICH, E ; GOULET, JR ; RAYMOND, Y ; SENÉCAL, JL: Predicting mortality in systemic sclerosis: analysis of a cohort of 309 French Canadian patients with emphasis on features at diagnosis as predictive factors for survival. In: *Medicine (Baltimore)* 81 (2002), Nr. 2, S. 154–167
- [18] GABRIELLI, A ; AVVEDIMENTO, EV ; KRIEG, T: Scleroderma. In: *N Engl J Med* 360 (2009), Nr. 19, S. 1989–2003
- [19] REVEILLE, JD: Ethnicity and race and systemic sclerosis: how it affects susceptibility, severity, antibody genetics, and clinical manifestations. In: *Curr Rheumatol Rep* 5 (2003), Nr. 2, S. 160–167
- [20] AGARWAL, SK ; TAN, FK ; ARNETT, FC: Genetics and genomic studies in scleroderma (systemic sclerosis). In: *Rheum Dis Clin North Am* 34 (2008), Nr. 1, S. 17–40;
- v
- [21] LOUBIÈRE, LS ; LAMBERT, NC ; MADELEINE, MM ; PORTER, AJ ; MULLARKEY, ME ; PANG, JM ; GALLOWAY, DA ; FURST, DE ; NELSON, JL: HLA allelic variants encoding DR11 in diffuse and limited systemic sclerosis in Caucasian women. In: *Rheumatology (Oxford)* 44 (2005), Nr. 3, S. 318–322

- [22] ARNETT, FC ; GOURH, P ; SHETE, S ; AHN, CW ; HONEY, RE ; AGARWAL, SK ; TAN, FK ; MCNEARNEY, T ; FISCHBACH, M ; FRITZLER, MJ ; MAYES, MD ; REVELLE, JD: Major histocompatibility complex (MHC) class II alleles, haplotypes and epitopes which confer susceptibility or protection in systemic sclerosis: analyses in 1300 Caucasian, African-American and Hispanic cases and 1000 controls. In: *Ann Rheum Dis* 69 (2010), Nr. 5, S. 822–827
- [23] DIEUDÉ, P ; GUEDJ, M ; WIPFF, J ; AVOUAC, J ; FAJARDY, I ; DIOT, E ; GRANEL, B ; SIBILIA, J ; CABANE, J ; MOUTHON, L ; CRACOWSKI, JL ; CARPENTIER, PH ; HACHULLA, E ; MEYER, O ; KAHAN, A ; BOILEAU, C ; ALLANORE, Y: Association between the IRF5 rs2004640 functional polymorphism and systemic sclerosis: a new perspective for pulmonary fibrosis. In: *Arthritis Rheum* 60 (2009), Nr. 1, S. 225–233
- [24] FONSECA, C ; LINDAHL, GE ; PONTICOS, M ; SESTINI, P ; RENZONI, EA ; HOLMES, AM ; SPAGNOLO, P ; PANTELIDIS, P ; LEONI, P ; MCHUGH, N ; STOCK, CJ ; SHI-WEN, X ; DENTON, CP ; BLACK, CM ; WELSH, KI ; DU BOIS, RM ; ABRAHAM, DJ: A polymorphism in the CTGF promoter region associated with systemic sclerosis. In: *N Engl J Med* 357 (2007), Nr. 12, S. 1210–1220
- [25] LUNARDI, C ; DOLCINO, M ; PETERLANA, D ; BASON, C ; NAVONE, R ; TAMASSIA, N ; BERI, R ; CORROCHER, R ; PUC CETTI, A: Antibodies against human cytomegalovirus in the pathogenesis of systemic sclerosis: a gene array approach. In: *PLoS Med* 3 (2006), Nr. 1, S. e2
- [26] HAMAMDZIC, D ; HARLEY, RA ; HAZEN-MARTIN, D ; LEROY, EC: MCMV induces neointima in IFN-gammaR-/- mice: intimal cell apoptosis and persistent proliferation of myofibroblasts. In: *BMC Musculoskelet Disord* 2 (2001), S. 3
- [27] MCCORMIC, ZD ; KHUDER, SS ; ARYAL, BK ; AMES, AL ; KHUDER, SA: Occupational silica exposure as a risk factor for scleroderma: a meta-analysis. In: *Int Arch Occup Environ Health* 83 (2010), Nr. 7, S. 763–769
- [28] NIETERT, PJ ; SUTHERLAND, SE ; SILVER, RM ; PANDEY, JP ; KNAPP, RG ; HOEL, DG ; DOSEMECI, M: Is occupational organic solvent exposure a risk factor for scleroderma? In: *Arthritis Rheum* 41 (1998), Nr. 6, S. 1111–1118
- [29] KETTANEH, A ; AL MOUFTI, O ; TIEV, KP ; CHAYET, C ; TOLÉDANO, C ; FABRE, B ; FARDET, L ; CABANE, J: Occupational exposure to solvents and gender-related risk of systemic sclerosis: a metaanalysis of case-control studies. In: *J Rheumatol* 34 (2007), Nr. 1, S. 97–103
- [30] NIETERT, PJ ; SILVER, RM: Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. In: *Curr Opin Rheumatol* 12 (2000), Nr. 6, S. 520–526
- [31] FINCH, WR ; RODNAN, GP ; BUCKINGHAM, RB ; PRINCE, RK ; WINKELSTEIN, A: Bleomycin-induced scleroderma. In: *J Rheumatol* 7 (1980), Nr. 5, S. 651–659
- [32] ARTLETT, CM: Microchimerism and scleroderma: an update. In: *Curr Rheumatol Rep* 5 (2003), Nr. 2, S. 154–159
- [33] JOHNSON, KL ; NELSON, JL ; FURST, DE ; MCSWEENEY, PA ; ROBERTS, DJ ; ZHEN, DK ; BIANCHI, DW: Fetal cell microchimerism in tissue from multiple sites in women with systemic sclerosis. In: *Arthritis Rheum* 44 (2001), Nr. 8, S. 1848–1854

- [34] NELSON, JL ; FURST, DE ; MALONEY, S ; GOOLEY, T ; EVANS, PC ; SMITH, A ; BEAN, MA ; OBER, C ; BIANCHI, DW: Microchimerism and HLA-compatible relationships of pregnancy in scleroderma. In: *Lancet* 351 (1998), Nr. 9102, S. 559–562
- [35] ABRAHAM, DJ ; KRIEG, T ; DISTLER, J ; DISTLER, O: Overview of pathogenesis of systemic sclerosis. In: *Rheumatology (Oxford)* 48 Suppl 3 (2009), S. iii3–iii7
- [36] GU, YS ; KONG, J ; CHEEMA, GS ; KEEN, CL ; WICK, G ; GERSHWIN, ME: The immunobiology of systemic sclerosis. In: *Semin Arthritis Rheum* 38 (2008), Nr. 2, S. 132–160
- [37] HUNZELMANN, N ; BRINCKMANN, J: What are the new milestones in the pathogenesis of systemic sclerosis? In: *Ann Rheum Dis* 69 Suppl 1 (2010), S. i52–i56
- [38] RIEMEKASTEN, G ; PHILIPPE, A ; NÄTHER, M ; SLOWINSKI, T ; MÜLLER, DN ; HEIDECKE, H ; MATUCCI-CERINIC, M ; CZIRJÁK, L ; LUKITSCH, I ; BECKER, M ; ET AL.: Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. In: *Annals of the rheumatic diseases* 70 (2011), Nr. 3, S. 530–536
- [39] KLEIN-WEIGEL, P ; OPITZ, C ; RIEMEKASTEN, G: Systemic sclerosis - a systematic overview: part 1 - disease characteristics and classification, pathophysiologic concepts, and recommendations for diagnosis and surveillance. In: *Vasa* 40 (2011), Nr. 1, S. 6–19
- [40] KAHALEH, MB ; SHERER, GK ; LEROY, EC: Endothelial injury in scleroderma. In: *J Exp Med* 149 (1979), Nr. 6, S. 1326–1335
- [41] LEROY, EC: Systemic sclerosis. A vascular perspective. In: *Rheum Dis Clin North Am* 22 (1996), Nr. 4, S. 675–694
- [42] SOLLBERG, S ; PELTONEN, J ; UITTO, J ; JIMENEZ, SA: Elevated expression of beta 1 and beta 2 integrins, intercellular adhesion molecule 1, and endothelial leukocyte adhesion molecule 1 in the skin of patients with systemic sclerosis of recent onset. In: *Arthritis Rheum* 35 (1992), Nr. 3, S. 290–298
- [43] SFIKAKIS, PP ; TESAR, J ; BARAF, H ; LIPNICK, R ; KLIPPLE, G ; TSOKOS, GC: Circulating intercellular adhesion molecule-1 in patients with systemic sclerosis. In: *Clin Immunol Immunopathol* 68 (1993), Nr. 1, S. 88–92
- [44] GRUSCHWITZ, MS ; HORNSTEIN, OP ; VON DEN DRIESCH, P: Correlation of soluble adhesion molecules in the peripheral blood of scleroderma patients with their in situ expression and with disease activity. In: *Arthritis Rheum* 38 (1995), Nr. 2, S. 184–189
- [45] DENTON, CP ; BICKERSTAFF, MC ; SHIWEN, X ; CARULLI, MT ; HASKARD, DO ; DUBOIS, RM ; BLACK, CM: Serial circulating adhesion molecule levels reflect disease severity in systemic sclerosis. In: *Br J Rheumatol* 34 (1995), Nr. 11, S. 1048–1054
- [46] SATO, S: Abnormalities of adhesion molecules and chemokines in scleroderma. In: *Curr Opin Rheumatol* 11 (1999), Nr. 6, S. 503–507
- [47] ZUBER, JP ; SPERTINI, F: Immunological basis of systemic sclerosis. In: *Rheumatology (Oxford)* 45 Suppl 3 (2006), S. iii23–iii25

- [48] VANCHEESWARAN, R ; AZAM, A ; BLACK, C ; DASHWOOD, MR: Localization of endothelin-1 and its binding sites in scleroderma skin. In: *J Rheumatol* 21 (1994), Nr. 7, S. 1268–1276
- [49] LEVIN, ER: Endothelins. In: *N Engl J Med* 333 (1995), Nr. 6, S. 356–363
- [50] YAMANE, K ; MIYAUCHI, T ; SUZUKI, N ; YUHARA, T ; AKAMA, T ; SUZUKI, H ; KASHIWAGI, H: Significance of plasma endothelin-1 levels in patients with systemic sclerosis. In: *J Rheumatol* 19 (1992), Nr. 10, S. 1566–1571
- [51] KRIEG, T ; HUNZELMANN, N: Aktuelle pathophysiologische Aspekte der systemischen Sklerose. In: *Z Rheumatol* 65 (2006), Nr. 4, S. 275–278
- [52] FINESCHI, S ; COZZI, F ; BURGER, D ; DAYER, JM ; MERONI, PL ; CHIZZOLINI, C: Anti-fibroblast antibodies detected by cell-based ELISA in systemic sclerosis enhance the collagenolytic activity and matrix metalloproteinase-1 production in dermal fibroblasts. In: *Rheumatology (Oxford)* 46 (2007), Nr. 12, S. 1779–1785
- [53] BARONI, SS ; SANTILLO, M ; BEVILACQUA, F ; LUCHETTI, M ; SPADONI, T ; MANCINI, M ; FRATICELLI, P ; SAMBO, P ; FUNARO, A ; KAZLAUSKAS, A ; AVVEDIMENTO, EV ; GABRIELLI, A: Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor in systemic sclerosis. In: *N Engl J Med* 354 (2006), Nr. 25, S. 2667–2676
- [54] CERINIC, MM ; VALENTINI, G ; SORANO, GG ; D'ANGELO, S ; CUOMO, G ; FENU, L ; GENERINI, S ; CINOTTI, S ; MORFINI, M ; PIGNONE, A ; GUIDUCCI, S ; DEL ROSSO, A ; KALFIN, R ; DAS, D ; MARONGIU, F: Blood coagulation, fibrinolysis, and markers of endothelial dysfunction in systemic sclerosis. In: *Semin Arthritis Rheum* 32 (2003), Nr. 5, S. 285–295
- [55] KAHALEH, MB ; LEROY, EC: Autoimmunity and vascular involvement in systemic sclerosis (SSc). In: *Autoimmunity* 31 (1999), Nr. 3, S. 195–214
- [56] ANDERSEN, GN ; MINCHEVA-NILSSON, L ; KAZZAM, E ; NYBERG, G ; KLINTLAND, N ; PETERSSON, AS ; RANTAPÄÄ-DAHLQVIST, S ; WALDENSTRÖM, A ; CAIDAH, K: Assessment of vascular function in systemic sclerosis: indications of the development of nitrate tolerance as a result of enhanced endothelial nitric oxide production. In: *Arthritis & Rheumatism* 46 (2002), Nr. 5, S. 1324–1332
- [57] GUIDUCCI, S ; DISTLER, O ; DISTLER, JHW ; MATUCCI-CERINIC, M: Mechanisms of vascular damage in SSc—implications for vascular treatment strategies. In: *Rheumatology (Oxford)* 47 Suppl 5 (2008), S. v18–v20
- [58] VON BIERBRAUER, A ; BARTH, P ; WILLERT, J ; BAERWALD, C ; MENNEL, HD ; SCHMIDT, JA: Electron microscopy and capillaroscopically guided nailfold biopsy in connective tissue diseases: detection of ultrastructural changes of the microcirculatory vessels. In: *Br J Rheumatol* 37 (1998), Nr. 12, S. 1272–1278
- [59] SAITO, Y ; ISHIKAWA, H: Ultrastructure of the microvasculature in skin affected by systemic scleroderma. In: *J Dermatol* 3 (1976), Nr. 4, S. 127–133
- [60] MARICQ, HR: Wide-field capillary microscopy. In: *Arthritis Rheum* 24 (1981), Nr. 9, S. 1159–1165

- [61] DISTLER, JH ; GAY, S ; DISTLER, O: Angiogenesis and vasculogenesis in systemic sclerosis. In: *Rheumatology (Oxford)* 45 Suppl 3 (2006), S. iii26–iii27
- [62] LIAKOULI, V ; CIPRIANI, P ; MARRELLI, A ; ALVARO, S ; RUSCITTI, P ; GIACOMELLI, R: Angiogenic cytokines and growth factors in systemic sclerosis. In: *Autoimmun Rev* 10 (2011), Nr. 10, S. 590–594
- [63] MARGHERI, F ; SERRATÌ, S ; LAPUCCI, A ; CHILLÀ, A ; BAZZICHI, L ; BOMBARDIERI, S ; KAHALEH, B ; CALORINI, L ; BIANCHINI, F ; FIBBI, G ; DEL ROSSO, M: Modulation of the angiogenic phenotype of normal and systemic sclerosis endothelial cells by gain-loss of function of pentraxin 3 and matrix metalloproteinase 12. In: *Arthritis Rheum* 62 (2010), Nr. 8, S. 2488–2498
- [64] RABQUER, BJ ; KOCH, AE: Angiogenesis and vasculopathy in systemic sclerosis: evolving concepts. In: *Curr Rheumatol Rep* 14 (2012), Nr. 1, S. 56–63
- [65] DEL PAPA, N ; QUIRICI, N ; SOLIGO, D ; SCAVULLO, C ; CORTIANA, M ; BORSOTTI, C ; MAGLIONE, W ; COMINA, DP ; VITALI, C ; FRATICELLI, P ; GABRIELLI, A ; CORTELEZZI, A ; LAMBERTENGGI-DELILIERI, G: Bone marrow endothelial progenitors are defective in systemic sclerosis. In: *Arthritis Rheum* 54 (2006), Nr. 8, S. 2605–2615
- [66] YAMAGUCHI, Y ; OKAZAKI, Y ; SETA, N ; SATOH, T ; TAKAHASHI, K ; IKEZAWA, Z ; KUWANA, M: Enhanced angiogenic potency of monocytic endothelial progenitor cells in patients with systemic sclerosis. In: *Arthritis Res Ther* 12 (2010), Nr. 6, S. R205
- [67] ALLANORE, Y ; BATTEUX, F ; AVOUAC, J ; ASSOUS, N ; WEILL, B ; KAHAN, A: Levels of circulating endothelial progenitor cells in systemic sclerosis. In: *Clin Exp Rheumatol* 25 (2007), Nr. 1, S. 60–66
- [68] KUWANA, M ; OKAZAKI, Y ; YASUOKA, H ; KAWAKAMI, Y ; IKEDA, Y: Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. In: *Lancet* 364 (2004), Nr. 9434, S. 603–610
- [69] ELHAI, M ; MEUNE, C ; AVOUAC, J ; KAHAN, A ; ALLANORE, Y: Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. In: *Rheumatology (Oxford)* 51 (2012), Nr. 6, S. 1017–1026
- [70] TYNDALL, AJ ; BANNERT, B ; VONK, M ; AIRÒ, Pa ; COZZI, F ; CARREIRA, PE ; BANCEL, DF ; ALLANORE, Y ; MÜLLER-LADNER, U ; DISTLER, O ; IANNONE, F ; PELLERITO, R ; PILECKYTE, M ; MINIATI, I ; ANANIEVA, L ; GURMAN, AB ; DAMJANOV, N ; MUELLER, A ; VALENTINI, G ; RIEMEKASTEN, G ; TIKLY, M ; HUMMERS, L ; HENRIQUES, MJ ; CARAMASCHI, P ; SCHEJA, A ; ROZMAN, B ; TON, E ; KUMÁNOVICS, G ; COLEIRO, B ; FEIERL, E ; SZUCS, G ; VON MÜHLEN, CA ; RICCIERI, V ; NOVAK, S ; CHIZZOLINI, C ; KOTULSKA, A ; DENTON, C ; COELHO, PC ; KÖTTER, I ; SIMSEK, I ; DE LA PENA LEFEBVRE, PG ; HACHULLA, E ; SEIBOLD, JR ; REDNIC, S ; STORK, J ; MOROVIC-VERGLES, J ; WALKER, UA: Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. In: *Ann Rheum Dis* 69 (2010), Nr. 10, S. 1809–1815

- [71] KAHALEH, MB: Raynaud phenomenon and the vascular disease in scleroderma. In: *Curr Opin Rheumatol* 16 (2004), Nr. 6, S. 718–722
- [72] HEIDRICH, H: Definition und Terminologie von Raynaud-Syndromen Definition and terminology of Raynaud's syndrome. In: *Dtsch Med Wochenschr* 133 (2008), Nr. 34/35, S. 1742–1744
- [73] SUNDERKÖTTER, C ; RIEMEKASTEN, G: Pathophysiology and clinical consequences of Raynaud's phenomenon related to systemic sclerosis. In: *Rheumatology (Oxford)* 45 Suppl 3 (2006), S. iii33–iii35
- [74] *Abbildung des menschlichen Körpers mit Organen.*: http://www.medinfo-wiki.de/images/9/99/2-Medizin-Der_Menschliche_Koerper.gif. Version: 2012
- [75] HUNZELMANN, N ; GENTH, E ; KRIEG, T ; LEHMACHER, W ; MELCHERS, I ; MEURER, M ; MOINZADEH, P ; MÜLLER-LADNER, U ; PFEIFFER, C ; RIEMEKASTEN, G ; SCHULZE-LOHOFF, E ; SUNDERKÖTTER, C ; WEBER, M ; WORM, M ; KLAUS, P ; RUBBERT, A ; STEINBRINK, K ; GRUNDT, B ; HEIN, R ; SCHARFFETTER-KOCHANEK, K ; HINRICHS, R ; WALKER, K ; SZEIMIES, RM ; KARRER, S ; MÜLLER, A ; SEITZ, C ; SCHMIDT, E ; LEHMANN, P ; FOELDVÁRI, I ; REICHENBERGER, F ; GROSS, WL ; KUHN, A ; HAUST, M ; REICH, K ; BÖHM, M ; SAAR, P ; FIERLBECK, G ; KÖTTER, I ; LORENZ, HM ; BLANK, N ; GRÄFENSTEIN, K ; JUCHE, A ; ABERER, E ; BALI, G ; FIEHN, C ; STADLER, R ; BARTELS, V ; , Registry of the German Network for Systemic S.: The registry of the German Network for Systemic Scleroderma: frequency of disease subsets and patterns of organ involvement. In: *Rheumatology (Oxford)* 47 (2008), Nr. 8, S. 1185–1192
- [76] STEEN, VD ; MEDSGER, TA: Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972–2002. In: *Ann Rheum Dis* 66 (2007), Nr. 7, S. 940–944
- [77] MEIER, FM ; FROMMER, KW ; DINSER, R ; WALKER, UA ; CZIRJAK, L ; DENTON, CP ; ALLANORE, Y ; DISTLER, O ; RIEMEKASTEN, G ; VALENTINI, G ; MÜLLER-LADNER, U ; , E. U. S. T. A. R Co-authors : Update on the profile of the EUSTAR cohort: an analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. In: *Ann Rheum Dis* 71 (2012), Nr. 8, S. 1355–1360
- [78] PENN, H ; HOWIE, AJ ; KINGDON, EJ ; BUNN, CC ; STRATTON, RJ ; BLACK, CM ; BURNS, A ; DENTON, CP: Scleroderma renal crisis: patient characteristics and long-term outcomes. In: *Qjm* 100 (2007), Nr. 8, S. 485–494
- [79] STEEN, VD ; MEDSGER, TA: Long-term outcomes of scleroderma renal crisis. In: *Annals of internal medicine* 133 (2000), Nr. 8, S. 600–603
- [80] MEDSGER, TA Jr ; MASI, A. T. ; RODNAN, G. P. ; BENEDEK, T. G. ; ROBINSON, H.: Survival with systemic sclerosis (scleroderma). A life-table analysis of clinical and demographic factors in 309 patients. In: *Ann Intern Med* 75 (1971), Nr. 3, S. 369–376
- [81] MEDSGER, TAJr. ; MASI, AT: Survival with scleroderma. II. A life-table analysis of clinical and demographic factors in 358 male U.S. veteran patients. In: *J Chronic Dis* 26 (1973), Nr. 10, S. 647–660

- [82] TZELEPIS, GE ; KELEKIS, NL ; PLASTIRAS, SC ; MITSEAS, P ; ECONOMOPOULOS, N ; KAMPOLIS, C ; GIALAFOS, EJ ; MOYSSAKIS, I ; MOUTSOPOULOS, HM: Pattern and distribution of myocardial fibrosis in systemic sclerosis: a delayed enhanced magnetic resonance imaging study. In: *Arthritis Rheum* 56 (2007), Nr. 11, S. 3827–3836
- [83] AKESSON, A ; WOLLHEIM, FA: Organ manifestations in 100 patients with progressive systemic sclerosis: a comparison between the CREST syndrome and diffuse scleroderma. In: *Br J Rheumatol* 28 (1989), Nr. 4, S. 281–286
- [84] FORBES, A ; MARIE, I: Gastrointestinal complications: the most frequent internal complications of systemic sclerosis. In: *Rheumatology (Oxford)* 48 Suppl 3 (2009), S. iii36–iii39
- [85] LEROY, EC ; MEDSGER, TAJr.: Criteria for the classification of early systemic sclerosis. In: *J Rheumatol* 28 (2001), Nr. 7, S. 1573–1576
- [86] KLINKE, R ; PAPE, HC ; SILBERNAGEL, S: *Physiologie*. Bd. 5.komplett überarb. Aufl. Stuttgart; New York : Thieme, 2005: S.204-206. – S.204–206
- [87] BALLETSCHOFER, BM ; RITTIG, K ; STOCK, J ; HÄRING, HU: Indikatoren einer beginnenden Atherosklerose: Erfassung der endothelialen Dysfunktion mittels hochauflösendem Ultraschall. In: *Ultraschall Med* 24 (2003), Nr. 3, S. 153–161
- [88] CELERMAJER, DS: Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? In: *J Am Coll Cardiol* 30 (1997), Nr. 2, S. 325–333
- [89] JANSSENS, SP ; SHIMOUCI, A ; QUERTERMOUS, T ; BLOCH, DB ; BLOCH, KD: Cloning and expression of a cDNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase. In: *J Biol Chem* 267 (1992), Nr. 21, S. 14519–14522
- [90] FLAMMER, AJ ; ANDERSON, T ; CELERMAJER, DS ; CREAGER, MA ; DEANFIELD, J ; GANZ, P ; HAMBURG, NM ; LÜSCHER, TF ; SHECHTER, M ; TADDEI, S ; VITA, JA ; LERMAN, A: The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. In: *Circulation* 126 (2012), Nr. 6, S. 753–767
- [91] EL MABROUK, M ; SINGH, A ; TOUYZ, RM ; SCHIFFRIN, EL: Antiproliferative effect of L-NAME on rat vascular smooth muscle cells. In: *Life Sci* 67 (2000), Nr. 13, S. 1613–1623
- [92] VANCHEESWARAN, R ; MAGOULAS, T ; EFRAT, G ; WHEELER-JONES, C ; OLSEN, I ; PENNY, R ; BLACK, CM: Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis subsets—a marker of fibrosis or vascular dysfunction? In: *J Rheumatol* 21 (1994), Nr. 10, S. 1838–1844
- [93] THIJSEN, DH ; BLACK, MA ; PYKE, KE ; PADILLA, J ; ATKINSON, G ; HARRIS, RA ; PARKER, B ; WIDLANSKY, ME ; TSCHAKOVSKY, ME ; GREEN, DJ: Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300 (2011), Nr. 1, S. H2–12
- [94] COOKE, JP ; ROSSITCH, Jr E. ; ANDON, NA ; LOSCALZO, J ; DZAU, VJ: Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. In: *J Clin Invest* 88 (1991), Nr. 5, S. 1663–1671

- [95] GOKCE, N: Clinical assessment of endothelial function: ready for prime time? In: *Circ Cardiovasc Imaging* 4 (2011), Nr. 4, S. 348–350
- [96] GRIFFITH, TM ; HENDERSON, AH ; EDWARDS, DH ; LEWIS, MJ: Isolated perfused rabbit coronary artery and aortic strip preparations: the role of endothelium-derived relaxant factor. In: *J Physiol* 351 (1984), S. 13–24
- [97] CAMPISI, R: Noninvasive assessment of coronary microvascular function in women at risk for ischaemic heart disease. In: *Int J Clin Pract* 62 (2008), Nr. 2, S. 300–307
- [98] CELERMAJER, DS ; SORENSEN, KE ; GOOCH, VM ; SPIEGELHALTER, DJ ; MILLER, OI ; SULLIVAN, ID ; LLOYD, JK ; DEANFIELD, JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. In: *Lancet* 340 (1992), Nr. 8828, S. 1111–1115
- [99] JOANNIDES, R ; HAEFELI, WE ; LINDER, L ; RICHARD, V ; BAKKALI, EH ; THUILLER, C ; LÜSCHER, TF: Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. In: *Circulation* 91 (1995), Nr. 5, S. 1314–1319
- [100] MULLEN, MJ ; KHARBANDA, RK ; CROSS, J ; DONALD, AE ; TAYLOR, M ; VALLANCE, P ; DEANFIELD, JE ; MACALLISTER, RJ: Heterogenous nature of flow-mediated dilatation in human conduit arteries in vivo: relevance to endothelial dysfunction in hypercholesterolemia. In: *Circ Res* 88 (2001), Nr. 2, S. 145–151
- [101] LIEBERMAN, EH ; GERHARD, MD ; UEHATA, A ; SELWYN, AP ; GANZ, P ; YEUNG, AC ; CREAGER, MA: Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients \geq 40 years of age with coronary artery disease. In: *Am J Cardiol* 78 (1996), Nr. 11, S. 1210–1214
- [102] SORENSEN, KE ; CELERMAJER, DS ; SPIEGELHALTER, DJ ; GEORGAKOPOULOS, D ; ROBINSON, J ; THOMAS, O ; DEANFIELD, JE: Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. In: *Br Heart J* 74 (1995), Nr. 3, S. 247–253
- [103] ANDERSON, TJ ; UEHATA, A ; GERHARD, MD ; MEREDITH, IT ; KNAB, S ; DELAGRANGE, D ; LIEBERMAN, EH ; GANZ, P ; CREAGER, MA ; YEUNG, AC: Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. In: *J Am Coll Cardiol* 26 (1995), Nr. 5, S. 1235–1241
- [104] YEBOAH, J ; FOLSOM, AR ; BURKE, GL ; JOHNSON, C ; POLAK, JF ; POST, W ; LIMA, JA ; CROUSE, JR ; HERRINGTON, DM: Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. In: *Circulation* 120 (2009), Nr. 6, S. 502–509
- [105] SCHNABEL, RB ; SCHULZ, A ; WILD, PS ; SINNING, CR ; WILDE, S ; ELEFThERIAS, M ; HERKENHOFF, S ; ZELLER, T ; LUBOS, E ; LACKNER, KJ ; WARNHOLTZ, A ; GORI, T ; BLANKENBERG, S ; MÜNDEL, T: Noninvasive vascular function measurement in the community: cross-sectional relations and comparison of methods. In: *Circ Cardiovasc Imaging* 4 (2011), Nr. 4, S. 371–380

- [106] WIDLANSKY, ME ; GOKCE, N ; KEANEY, JF Jr. ; VITA, JA: The clinical implications of endothelial dysfunction. In: *J Am Coll Cardiol* 42 (2003), Nr. 7, S. 1149–1160
- [107] KUVIN, JT ; PATEL, AR ; SLINEY, KA ; PANDIAN, NG ; SHEFFY, J ; SCHNALL, RP ; KARAS, RH ; UDELSON, JE: Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. In: *Am Heart J* 146 (2003), Nr. 1, S. 168–174
- [108] HAMBURG, NM ; KEYES, MJ ; LARSON, MG ; VASAN, RS ; SCHNABEL, R ; PRYDE, MM ; MITCHELL, GF ; SHEFFY, J ; VITA, JA ; BENJAMIN, EJ: Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. In: *Circulation* 117 (2008), Nr. 19, S. 2467–2474
- [109] HAMBURG, NM ; PALMISANO, J ; LARSON, MG ; SULLIVAN, LM ; LEHMAN, BT ; VASAN, RS ; LEVY, D ; MITCHELL, GF ; VITA, JA ; BENJAMIN, EJ: Relation of brachial and digital measures of vascular function in the community: the Framingham heart study. In: *Hypertension* 57 (2011), Nr. 3, S. 390–396
- [110] LUDMER, PL ; SELWYN, AP ; SHOOK, TL ; WAYNE, RR ; MUDGE, GH ; ALEXANDER, RW ; GANZ, P: Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. In: *N Engl J Med* 315 (1986), Nr. 17, S. 1046–1051
- [111] BELTRAME, JF ; CREA, F ; CAMICI, P: Advances in coronary microvascular dysfunction. In: *Heart Lung Circ* 18 (2009), Nr. 1, S. 19–27
- [112] RERIANI, MK ; LERMAN, LO ; LERMAN, A: Endothelial function as a functional expression of cardiovascular risk factors. In: *Biomark Med* 4 (2010), Nr. 3, S. 351–360
- [113] PETRIE, JR ; UEDA, S ; MORRIS, AD ; MURRAY, LS ; ELLIOTT, HL ; CONNELL, JM: How reproducible is bilateral forearm plethysmography? In: *Br J Clin Pharmacol* 45 (1998), Nr. 2, S. 131–139
- [114] ROBERTS, DH ; TSAO, Y ; BRECKENRIDGE, AM: The reproducibility of limb blood flow measurements in human volunteers at rest and after exercise by using mercury-in-Silastic strain gauge plethysmography under standardized conditions. In: *Clin Sci (Lond)* 70 (1986), Nr. 6, S. 635–638
- [115] CAI, H ; HARRISON, DG: Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. In: *Circ Res* 87 (2000), Nr. 10, S. 840–844
- [116] GIMBRONE, MA Jr.: Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. In: *Am J Cardiol* 75 (1995), Nr. 6, S. 67B–70B
- [117] KAYE, DM ; AHLERS, BA ; AUTELITANO, DJ ; CHIN-DUSTING, JP: In vivo and in vitro evidence for impaired arginine transport in human heart failure. In: *Circulation* 102 (2000), Nr. 22, S. 2707–2712
- [118] TIEFENBACHER, CP ; BLEEKE, T ; VAHL, C ; AMANN, K ; VOGT, A ; KÜBLER, W: Endothelial dysfunction of coronary resistance arteries is improved by tetrahydrobiopterin in atherosclerosis. In: *Circulation* 102 (2000), Nr. 18, S. 2172–2179

- [119] ITO, A ; TSAO, PS ; ADIMOOLAM, S ; KIMOTO, M ; OGAWA, T ; COOKE, JP: Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. In: *Circulation* 99 (1999), Nr. 24, S. 3092–3095
- [120] COOKE, JP: Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? In: *Circulation* 109 (2004), Nr. 15, S. 1813–1818
- [121] VERGNANI, L ; HATRIK, S ; RICCI, F ; PASSARO, A ; MANZOLI, N ; ZULIANI, G ; BROVKOVYCH, V ; FELLIN, R ; MALINSKI, T: Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production : key role of L-arginine availability. In: *Circulation* 101 (2000), Nr. 11, S. 1261–1266
- [122] TREASURE, CB ; MANOUKIAN, SV ; KLEIN, JL ; VITA, JA ; NABEL, EG ; RENWICK, GH ; SELWYN, AP ; ALEXANDER, RW ; GANZ, P: Epicardial coronary artery responses to acetylcholine are impaired in hypertensive patients. In: *Circ Res* 71 (1992), Nr. 4, S. 776–781
- [123] PANZA, JA ; QUYYUMI, AA ; BRUSH, JEr. ; EPSTEIN, SE: Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. In: *N Engl J Med* 323 (1990), Nr. 1, S. 22–27
- [124] LINDER, L ; KIOWSKI, W ; BÜHLER, FR ; LÜSCHER, TF: Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. In: *Circulation* 81 (1990), Nr. 6, S. 1762–1767
- [125] CALVER, A ; COLLIER, J ; VALLANCE, P: Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. In: *J Clin Invest* 90 (1992), Nr. 6, S. 2548–2554
- [126] STEINBERG, HO ; CHAKER, H ; LEAMING, R ; JOHNSON, A ; BRECHTEL, G ; BARON, AD: Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. In: *J Clin Invest* 97 (1996), Nr. 11, S. 2601–2610
- [127] SPIEKER, LE ; SUDANO, I ; HÜRLIMANN, D ; LERCH, PG ; LANG, MG ; BINGGELI, C ; CORTI, R ; RUSCHITZKA, F ; LÜSCHER, TF ; NOLL, G: High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemic men. In: *Circulation* 105 (2002), Nr. 12, S. 1399–1402
- [128] CELERMAJER, DS ; ADAMS, MR ; CLARKSON, P ; ROBINSON, J ; MCCREDIE, R ; DONALD, A ; DEANFIELD, JE: Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. In: *N Engl J Med* 334 (1996), Nr. 3, S. 150–154
- [129] DREXLER, H ; HAYOZ, D ; MÜNDEL, T ; HORNIG, B ; JUST, H ; BRUNNER, HR ; ZELIS, R: Endothelial function in chronic congestive heart failure. In: *Am J Cardiol* 69 (1992), Nr. 19, S. 1596–1601
- [130] KUBO, SH ; RECTOR, TS ; BANK, AJ ; WILLIAMS, RE ; HEIFETZ, SM: Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. In: *Circulation* 84 (1991), Nr. 4, S. 1589–1596

- [131] KUVIN, JT ; PATEL, AR ; SLINEY, KA ; PANDIAN, NG ; RAND, WM ; UDELSON, JE ; KARAS, RH: Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease. In: *J Am Coll Cardiol* 38 (2001), Nr. 7, S. 1843–1849
- [132] JAMBRIK, Z ; VENNERI, L ; VARGA, A ; RIGO, F ; BORGES, A ; PICANO, E: Peripheral vascular endothelial function testing for the diagnosis of coronary artery disease. In: *Am Heart J* 148 (2004), Nr. 4, S. 684–689
- [133] POREDOS, P ; GOLOB, M ; JENSTERLE, M: Interrelationship between peripheral arterial occlusive disease, carotid atherosclerosis and flow mediated dilation of the brachial artery. In: *Int Angiol* 22 (2003), Nr. 1, S. 83–87
- [134] WEISS, T ; FISCHER, D ; HAUSMANN, D ; WEISS, C: Endothelial function in patients with peripheral vascular disease: influence of prostaglandin E1. In: *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 67 (2002), Nr. 5, S. 277–281
- [135] MAZZOCOLI, G ; FONTANA, A ; GRILLI, M ; DAGOSTINO, MP ; COPETTI, M ; PELLEGRINI, F ; VENDEMIALE, G: Idiopathic deep venous thrombosis and arterial endothelial dysfunction in the elderly. In: *Age (Dordr)* 34 (2012), Nr. 3, S. 751–760
- [136] SKAUG, EA ; ASPENES, ST ; OLDERVOLL, L ; MØRKEDAL, B ; VATTEN, L ; WISLØFF, U ; ELLINGSEN, O: Age and gender differences of endothelial function in 4739 healthy adults: the HUNT3 Fitness Study. In: *Eur J Prev Cardiol* 20 (2013), Nr. 4, S. 531–540
- [137] PERREGAUX, D ; CHAUDHURI, A ; MOHANTY, P ; BUKHARI, L ; WILSON, MF ; SUNG, BH ; DANDONA, P: Effect of gender differences and estrogen replacement therapy on vascular reactivity. In: *Metabolism* 48 (1999), Nr. 2, S. 227–232
- [138] SARABI, M ; MILLGÅRD, J ; LIND, L: Effects of age, gender and metabolic factors on endothelium-dependent vasodilation: a population-based study. In: *J Intern Med* 246 (1999), Nr. 3, S. 265–274
- [139] HO, JY ; CHEN, MJ ; SHEU, WH ; YI, YC ; TSAI, AC ; GUU, HF ; HO, ES: Differential effects of oral conjugated equine estrogen and transdermal estrogen on atherosclerotic vascular disease risk markers and endothelial function in healthy postmenopausal women. In: *Hum Reprod* 21 (2006), Nr. 10, S. 2715–2720
- [140] COOPER, DC ; TOMFOHR, LM ; MILIC, MS ; NATARAJAN, L ; BARDWELL, WA ; ZIEGLER, MG ; DIMSDALE, JE: Depressed mood and flow-mediated dilation: a systematic review and meta-analysis. In: *Psychosom Med* 73 (2011), Nr. 5, S. 360–369
- [141] VESELINOVIC, MV ; ZIVKOVIC, VI ; TONCEV, S ; TASIC, N ; BOGDANOVIC, V ; DJURIC, DM ; JAKOVLJEVIC, VLj: Carotid artery intima-media thickness and brachial artery flow-mediated vasodilatation in patients with rheumatoid arthritis. In: *Vasa* 41 (2012), Nr. 5, S. 343–351
- [142] ZHANG, CY ; LU, LJ ; LI, FH ; LI, HL ; GU, YY ; CHEN, SL ; BAO, CD: Evaluation of risk factors that contribute to high prevalence of premature atherosclerosis in Chinese premenopausal systemic lupus erythematosus patients. In: *J Clin Rheumatol* 15 (2009), Nr. 3, S. 111–116

- [143] SARI, I ; OKAN, T ; AKAR, S ; CECE, H ; ALTAY, C ; SECIL, M ; BIRLIK, M ; ONEN, F ; AKKOC, N: Impaired endothelial function in patients with ankylosing spondylitis. In: *Rheumatology (Oxford)* 45 (2006), Nr. 3, S. 283–286
- [144] SOLTÉSZ, P ; DÉR, H ; KEREKES, G ; SZODORAY, P ; SZÜCS, G ; DANKÓ, K ; SHOENFELD, Y ; SZEGEDI, G ; SZEKANECZ, Z: A comparative study of arterial stiffness, flow-mediated vasodilation of the brachial artery, and the thickness of the carotid artery intima-media in patients with systemic autoimmune diseases. In: *Clin Rheumatol* 28 (2009), Nr. 6, S. 655–662
- [145] CYPIENE, A ; KOVAITE, M ; VENALIS, A ; DADONIENE, J ; RUGIENE, R ; PETRULIONIENE, Z ; RYLISKYTE, L ; LAUCEVICIUS, A: Arterial wall dysfunction in systemic lupus erythematosus. In: *Lupus* 18 (2009), Nr. 6, S. 522–529
- [146] DAVIGNON, J ; GANZ, P: Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. In: *Circulation* 109 (2004), Nr. 23 Suppl 1, S. III27–III32
- [147] REDDY, KG ; NAIR, RN ; SHEEHAN, HM ; HODGSON, JM: Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. In: *J Am Coll Cardiol* 23 (1994), Nr. 4, S. 833–843
- [148] INABA, Y ; CHEN, JA ; BERGMANN, SR: Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. In: *Int J Cardiovasc Imaging* 26 (2010), Nr. 6, S. 631–640
- [149] CARERI, G ; NERLA, R ; DI MONACO, A ; RUSSO, G ; STAZI, A ; VILLANO, A ; SESTITO, A ; LANZA, GA ; CREA, F: Clinical correlates and prognostic value of flow mediated dilation in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. In: *Am J Cardiol* 111 (2013), Jan, Nr. 1, S. 51–57
- [150] LAM, CS ; BRUTSAERT, DL.: Endothelial dysfunction: a pathophysiologic factor in heart failure with preserved ejection fraction. In: *J Am Coll Cardiol* 60 (2012), Oct, Nr. 18, S. 1787–1789
- [151] GOKCE, N ; KEANEY, JFJr. ; HUNTER, LM ; WATKINS, MT ; MENZOIAN, JO ; VITA, JA: Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function: a prospective study. In: *Circulation* 105 (2002), Nr. 13, S. 1567–1572
- [152] HOLLENBERG, SM ; KLEIN, LW ; PARRILLO, JE ; SCHERER, M ; BURNS, D ; TAMBURRO, P ; BROMET, D ; SATRAN, A ; COSTANZO, MR: Changes in coronary endothelial function predict progression of allograft vasculopathy after heart transplantation. In: *J Heart Lung Transplant* 23 (2004), Nr. 3, S. 265–271
- [153] WILDHIRT, SM ; WEIS, M ; SCHULZE, C ; CONRAD, N ; RIEDER, G ; ENDERS, G ; HOEPP, C ; VON SCHEIDT, W ; REICHART, B: An association between microvascular endothelial dysfunction, transcatheter nitric oxide production and pro-inflammatory cytokines after heart transplantation in humans. In: *Transpl Int* 13 Suppl 1 (2000), S. S228–S234

- [154] TAKASE, B ; UEHATA, A ; AKIMA, T ; NAGAI, T ; NISHIOKA, T ; HAMABE, A ; SATOMURA, K ; OHSUZU, F ; KURITA, A: Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease. In: *Am J Cardiol* 82 (1998), Nr. 12, S. 1535–9, A7–8
- [155] ANDERSON, TJ ; MEREDITH, IT ; YEUNG, AC ; FREI, B ; SELWYN, AP ; GANZ, P: The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. In: *N Engl J Med* 332 (1995), Nr. 8, S. 488–493
- [156] TREASURE, CB ; KLEIN, JL ; WEINTRAUB, WS ; TALLEY, JD ; STILLABOWER, ME ; KOSINSKI, AS ; ZHANG, J ; BOCCUZZI, SJ ; CEDARHOLM, JC ; ALEXANDER, RW: Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. In: *N Engl J Med* 332 (1995), Nr. 8, S. 481–487
- [157] MANCINI, GB ; HENRY, GC ; MACAYA, C ; O'NEILL, BJ ; PUCILLO, AL ; CARERE, RG ; WARGOVICH, TJ ; MUDRA, H ; LÜSCHER, TF ; KLIBANER, MI ; HABER, HE ; UPRICHARD, AC ; PEPINE, CJ ; PITT, B: Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction) Study. In: *Circulation* 94 (1996), Nr. 3, S. 258–265
- [158] LEKAKIS, J ; MAVRIKAKIS, M ; PAPAMICHAEL, C ; PAPAZOGLU, S ; ECONOMOU, O ; SCOTINIOTIS, I ; STAMATELOPOULOS, K ; VEMMOS, C ; STAMATELOPOULOS, S ; MOULOPOULOS, S: Short-term estrogen administration improves abnormal endothelial function in women with systemic sclerosis and Raynaud's phenomenon. In: *American heart journal* 136 (1998), Nr. 5, S. 905–912
- [159] LEKAKIS, J ; PAPAMICHAEL, C ; MAVRIKAKIS, M ; VOUTSAS, A ; STAMATELOPOULOS, S ; ET AL.: Effect of long-term estrogen therapy on brachial arterial endothelium-dependent vasodilation in women with Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis. In: *The American journal of cardiology* 82 (1998), Nr. 12, S. 1555
- [160] MAVRIKAKIS, ME ; LEKAKIS, JP ; PAPAMICHAEL, CM ; STAMATELOPOULOS, KS ; KOSTOPOULOS, ChC ; STAMATELOPOULOS, SF: Ascorbic acid does not improve endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery in patients with Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis. In: *International journal for vitamin and nutrition research* 73 (2003), Nr. 1, S. 3–7
- [161] D'ANDREA, A ; STISI, S ; CASO, P ; UCCIO, FS ; BELLISSIMO, S ; SALERNO, G ; SCARAFILE, R ; RIEGLER, L ; CUOMO, S ; CITRO, R ; ET AL.: Associations between left ventricular myocardial involvement and endothelial dysfunction in systemic sclerosis: noninvasive assessment in asymptomatic patients. In: *Echocardiography* 24 (2007), Nr. 6, S. 587–597
- [162] SZUCS, G ; TIMAR, O ; SZEKANECZ, Z ; DÉR, H ; KEREEKES, G ; SZAMOSI, S ; SHOENFELD, Y ; SZEGEDI, G ; SOLTÉSZ, P: Endothelial dysfunction precedes atherosclerosis in systemic sclerosis—relevance for prevention of vascular complications. In: *Rheumatology* 46 (2007), S. 759–62

- [163] SFIKAKIS, PP ; PAPAMICHAEL, C ; STAMATELOPOULOS, KS ; TOUSOULIS, D ; FRAGIADAKI, KG ; KATSICHTI, P ; STEFANADIS, C ; MAVRIKAKIS, M: Improvement of vascular endothelial function using the oral endothelin receptor antagonist bosentan in patients with systemic sclerosis. In: *Arthritis & Rheumatism* 56 (2007), Nr. 6, S. 1985–1993
- [164] BARTOLI, F ; BLAGOJEVIC, J ; BACCI, M ; FIORI, G ; TEMPESTINI, A ; CONFORTI, ML ; GUIDUCCI, S ; MINIATI, I ; DI CHICCO, M ; DEL ROSSO, A ; PERFETTO, F ; CASTELLANI, S ; PIGNONE, A ; CERINIC, MM.: Flow-Mediated Vasodilation and Carotid Intima-Media Thickness in Systemic Sclerosis. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1108 (2007), Nr. 1, S. 283–290
- [165] CYPHENÈ, A ; LAUCEVICIUS, A ; VENALIS, A ; DADONIENÈ, J ; RYLISKYTÈ, L ; PETRULIONIENÈ, Z ; KOVAITÈ, M ; GINTAUTAS, J: The impact of systemic sclerosis on arterial wall stiffness parameters and endothelial function. In: *Clinical rheumatology* 27 (2008), Nr. 12, S. 1517–1522
- [166] ROSSI, P ; GRANEL, B ; MARZIALE, D ; LE MÉE, F ; FRANCÈS, Y: Endothelial function and hemodynamics in systemic sclerosis. In: *Clinical physiology and functional imaging* 30 (2010), Nr. 6, S. 453–459
- [167] ROLLANDO, D ; BEZANTE, GP ; SULLI, A ; BALBI, M ; PANICO, N ; PIZZORNI, C ; NEGRINI, S ; BRUNELLI, C ; BARSOTTI, A ; CUTOLO, M ; ET AL.: Brachial artery endothelial-dependent flow-mediated dilation identifies early-stage endothelial dysfunction in systemic sclerosis and correlates with nailfold microvascular impairment. In: *The Journal of rheumatology* 37 (2010), Nr. 6, S. 1168–1173
- [168] MOK, MY ; YIU, KH ; WONG, CY ; QIUWAXI, J ; LAI, WH ; WONG, WS ; TSE, HF ; LAU, CS: Low circulating level of CD133+ KDR+ cells in patients with systemic sclerosis. In: *Clinical and experimental rheumatology* 28 (2010), Nr. 5, S. 19
- [169] TAKAHASHI, T ; ASANO, Y ; AMIYA, E ; HATANO, M ; TAMAKI, Z ; TAKATA, M ; OZEKI, A ; WATANABE, A ; KAWARASAKI, S ; TANIGUCHI, T ; ICHIMURA, Y ; TOYAMA, T ; WATANABE, M ; HIRATA, Y ; NAGAI, R ; KOMURO, I ; SATO, S: Clinical correlation of brachial artery flow-mediated dilation in patients with systemic sclerosis. In: *Mod Rheumatol* 24 (2014), S. 106–111
- [170] ROUSTIT, M ; SIMMONS, GH ; BAGUET, JP ; CARPENTIER, P ; CRACOWSKI, JL: Discrepancy between simultaneous digital skin microvascular and brachial artery macrovascular post-occlusive hyperemia in systemic sclerosis. In: *The Journal of rheumatology* 35 (2008), Nr. 8, S. 1576–1583
- [171] SHENOY, PD ; KUMAR, S ; JHA, LK ; CHOUDHARY, SK ; SINGH, U ; MISRA, R ; AGARWAL, V: Efficacy of tadalafil in secondary Raynaud’s phenomenon resistant to vasodilator therapy: a double-blind randomized cross-over trial. In: *Rheumatology* 49 (2010), Nr. 12, S. 2420–2428
- [172] ROSATO, E ; BARBANO, B ; GIGANTE, A ; AVERSA, A ; CIANCI, R ; MOLINARO, I ; QUARTA, S ; PISARRI, S ; AFELTRA, A ; SALSANO, F: Erectile dysfunction, endothelium dysfunction, and microvascular damage in patients with systemic sclerosis. In: *J Sex Med* 10 (2013), Nr. 5, S. 1380–1388

- [173] DECHEND, R ; HOMUTH, V ; WALLUKAT, G ; KREUZER, J ; PARK, JK ; THEUER, J ; JUEPNER, A ; GULBA, DC ; MACKMAN, N ; HALLER, H ; LUFT, FC: AT(1) receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. In: *Circulation* 101 (2000), Nr. 20, S. 2382–2387
- [174] PARRISH, MR ; RYAN, MJ ; GLOVER, P ; BREWER, J ; RAY, L ; DECHEND, R ; MARTIN, JNJr. ; LAMARCA, BB: Angiotensin II type 1 autoantibody induced hypertension during pregnancy is associated with renal endothelial dysfunction. In: *Gend Med* 8 (2011), Nr. 3, S. 184–188
- [175] DRAGUN, D ; MÜLLER, DN ; BRÄSEN, JH ; FRITSCHKE, L ; NIEMINEN-KELHÄ, M ; DECHEND, R ; KINTSCHER, U ; RUDOLPH, B ; HOEBEKE, J ; ECKERT, D ; MAZAK, I ; PLEHM, R ; SCHÖNEMANN, C ; UNGER, T ; BUDDE, K ; NEUMAYER, HH ; LUFT, FC ; WALLUKAT, G: Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. In: *N Engl J Med* 352 (2005), Nr. 6, S. 558–569
- [176] DANDEL, M ; WALLUKAT, G ; ENGLERT, A ; HETZER, R: Immunoabsorption therapy for dilated cardiomyopathy and pulmonary arterial hypertension. In: *Atheroscler Suppl* 14 (2013), Nr. 1, S. 203–211
- [177] CLEMENTS, PH ; LACHENBRUCH, P ; SIEBOLD, J ; WHITE, B ; WEINER, S ; MARTIN, R ; WEINSTEIN, A ; WEISMAN, M ; MAYES, M ; COLLIER, D et a.: Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. In: *The Journal of Rheumatology* 22 (1995), Nr. 7, S. 1281
- [178] VALENTINI, G ; SILMAN, AJ ; VEALE, D: Assessment of disease activity. In: *Clin Exp Rheumatol* 21 (2003), Nr. 3 Suppl 29, S. S39–S41
- [179] HUDSON, M ; STEELE, R ; , Canadian Scleroderma Research Group (C. S. R. G. ; BARON, M: Update on indices of disease activity in systemic sclerosis. In: *Semin Arthritis Rheum* 37 (2007), Nr. 2, S. 93–98
- [180] CORRETTI, MC ; ANDERSON, TJ ; BENJAMIN, EJ ; CELERMAJER, D ; CHARBONNEAU, F ; CREAGER, MA ; DEANFIELD, J ; DREXLER, H ; GERHARD-HERMAN, M ; HERRINGTON, D ; VALLANCE, P ; VITA, J ; VOGEL, R: Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. In: *Journal of the American College of Cardiology* 39 (2002), Nr. 2, S. 257–265
- [181] FERNANDES, TM ; BICA, BE ; VILLELA, NR ; SALLES, EF ; AZEVEDO, MN ; PAPI, JA ; MARTINS, RA: Evaluation of endothelial function in patients with limited systemic sclerosis by use of brachial artery Doppler ultrasound. In: *Rev Bras Reumatol* 52 (2012), Nr. 4, S. 561–568
- [182] VINOGRADOV, AA ; SHILKINA, NP ; KOSTYREVA, NA: [Brachial artery responsiveness in patients with systemic lupus erythematosus and scleroderma systematica]. In: *Ter Arkh* 82 (2010), Nr. 1, S. 43–46
- [183] VOLKOV, AV ; MACH, ES ; GUSEVA, NG: [Endothelial dysfunction in scleroderma systematica: clinicopathogenetic correlations]. In: *Ter Arkh* 80 (2008), Nr. 10, S. 68–72

- [184] KAROLI, NA ; ORLOVA, EE ; REBROV, AP: [Endothelial dysfunction in patients with scleroderma systemic]. In: *Klin Med (Mosk)* 84 (2006), Nr. 7, S. 28–31
- [185] DOSHI, SN ; NAKA, KK ; PAYNE, N ; JONES, CJ ; ASHTON, M ; LEWIS, MJ ; GOODFELLOW, J: Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. In: *Clin Sci (Lond)* 101 (2001), Dec, Nr. 6, S. 629–635
- [186] BETIK, AC ; LUCKHAM, VB ; HUGHSON, RL: Flow-mediated dilation in human brachial artery after different circulatory occlusion conditions. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286 (2004), Jan, Nr. 1, S. H442–H448
- [187] SIMEÓN-AZNAR, CP ; FONOLLOSA-PLÁ, V ; TOLOSA-VILELLA, C ; ESPINOSA-GARRIGA, G ; RAMOS-CASALS, M ; CAMPILLO-GRAU, M ; GARCÍA-HERNÁNDEZ, FJ ; CASTILLO-PALMA, MJ ; SÁNCHEZ-ROMÁN, J ; CALLEJAS-RUBIO, JL ; ORTEGO-CENTENO, N ; EGURBIDE-ARBERAS, MV ; TRAPIELLA-MARTÍNEZ, L ; GALLEGU-VILLALOBOS, M ; SÁEZ-COMET, L ; VELILLA-MARCO, J ; CAMPS-GARCÍA, MT ; DE RAMÓN-GARRIDO, E ; ESTEBAN MARCOS, EM ; PALLARÉS-FERRERES, L ; HIDALGO-TENORIO, C ; SABIO-SÁNCHEZ, JM ; GÓMEZ-DE LA TORRE, R ; SALVADOR-CERVELLO, G ; RIOS-BLANCO, JJ ; GIL-AGUADO, A ; VILARDELL-TARRÉS, M: Registry of the Spanish network for systemic sclerosis: clinical pattern according to cutaneous subsets and immunological status. In: *Semin Arthritis Rheum* 41 (2012), Nr. 6, S. 789–800
- [188] D'ANGELO, WA ; FRIES, JF ; MASI, AT ; SHULMAN, LE: Pathologic observations in systemic sclerosis (scleroderma). A study of fifty-eight autopsy cases and fifty-eight matched controls. In: *Am J Med* 46 (1969), Mar, Nr. 3, S. 428–440
- [189] BHADAURIA, S ; MOSER, DK ; CLEMENTS, PJ ; SINGH, RR ; LACHENBRUCH, PA ; PITKIN, RM ; WEINER, SR: Genital tract abnormalities and female sexual function impairment in systemic sclerosis. In: *Am J Obstet Gynecol* 172 (1995), Feb, Nr. 2 Pt 1, S. 580–587
- [190] BUUS, NH ; JØRGENSEN, CG ; MULVANY, MJ ; SØRENSEN, KE: Large and small artery endothelial function in patients with essential hypertension—effect of ACE inhibition and beta-blockade. In: *Blood Press* 16 (2007), Nr. 2, S. 106–113
- [191] ANDERSON, TJ ; ELSTEIN, E ; HABER, H ; CHARBONNEAU, F: Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF study). In: *J Am Coll Cardiol* 35 (2000), Jan, Nr. 1, S. 60–66
- [192] YE, Y ; ZHAO, X ; ZHAI, G ; GUO, L ; TIAN, Z ; ZHANG, S: Effect of high-dose statin versus low-dose statin plus ezetimibe on endothelial function: a meta-analysis of randomized trials. In: *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 17 (2012), Dec, Nr. 4, S. 357–365
- [193] DE ROOS, NM ; BOTS, ML ; SCHOUTEN, EG ; KATAN, MB: Within-subject variability of flow-mediated vasodilation of the brachial artery in healthy men and women: implications for experimental studies. In: *Ultrasound Med Biol* 29 (2003), Nr. 3, S. 401–406

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Anne Klüßendorf, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Endothelfunktion bei Patienten mit Systemischer Sklerose – ein Marker für klinische Erkrankungsmanifestationen? selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Mein größter Dank gilt Frau Prof. Dr. Verena Stangl, Leitende Ärztin der „Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie und Angiologie“ am Charité Centrum 11 und Arbeitsgruppenleiterin am Center for Cardiovascular Research (CCR). Frau Prof. Dr. Stangl ermöglichte mir nicht nur die Durchführung dieser Arbeit sondern unterstützte mich auch mit vielen neuen Ideen bei medizinischen Fragestellungen und hat wesentlich die Zusammenarbeit mit den Kollegen und Kolleginnen der „Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie“, Charité Centrum 12, initiiert und gefördert. Darüber hinaus danke ich ihr für die außerordentliche Geduld, ihre zeitliche Unterstützung insbesondere zum Ende meiner Promotionsarbeit sowie für das wiederholte Korrekturlesen dieser Dissertation.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Frau Prof. Dr. Gabriela Riemekasten, Leiterin des „Zentrums für Sklerodermie“ der „Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie“, Charité Centrum 12. Sie unterstützte mich nicht nur mit vielen spannenden Einfällen sowohl in der Vorbereitungs- als auch Auswertungsphase meiner Arbeit, sondern war außerdem meine wichtigste Ansprechpartnerin bei Fragen zur systemischen Sklerose. Ihr habe ich zu verdanken, dass ich eine so große Fallzahl an Studienteilnehmern aus ihrem Patientenkollektiv rekrutieren konnte.

Sehr dankbar bin ich auch Frau Dr. Nicoline Jochmann für ihre Hilfe bei zahlreichen Fragen insbesondere zur Durchführung und Theorie der Endothelfunktionsmessung sowie für ihre administrative Unterstützung zur Realisierung der Studie.

Ich danke Dr. Katharina Weinert für ihre Betreuung bei der Erarbeitung des Studienprotokolls in der Anfangsphase meiner Dissertation, und Dr. Mike Becker für die Hilfe zu allen im Verlauf anfallenden Fragen zur systemischen Sklerose, Durchsicht und Kontrolle der von mir erhobenen Patientendaten und Ergebnisse sowie für die vielen interessanten Gespräche.

Frau Christine Gericke vom Institut für medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie der Charité Universitätsmedizin und Frau Dipl. Math. Gerda Siebert danke ich herzlich für die statistische Beratung während meiner Datenauswertungen.

Ein besonderer Dank gilt auch allen weiteren Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der AG Riemekasten, insbesondere Frau Kathrin Mattat und Frau Angela Kill, für die Unterstützung bei der Patientenrekrutierung und ihre Hilfe in diversen administrativen Belangen.

Weiterhin danke ich dem Bereich der Funktionsdiagnostik, insbesondere Frau Maas von der Lungenfunktionsdiagnostik und dem Team der Echokardiographie, für das flexible Einschließen der Studienpatienten und die damit verbundene intensive Nutzung ihrer Ressourcen.

Für die freundliche Zusammenarbeit und angenehme Atmosphäre sei allen weiteren und ehemaligen Mitarbeitern der Kardiologie/Angiologie und Rheumatologie der Charite Centren 11 und 12 herzlich gedankt.

Ein besonderes Dankeschön möchte ich auch allen Patienten und Patientinnen für ihre

selbstlose Teilnahme an der Studie aussprechen.

Schließlich möchte ich meiner Familie einen großen Dank für die Unterstützung während meines Medizinstudiums und allen Phasen meiner Dissertation aussprechen, und meinem Partner für das ausdauernde mehrfache Korrekturlesen, die konstruktive Kritik und Aufrechterhaltung der Motivation zum Ende meiner Dissertation.